

SÉRIE A, N° 2886

N° D'ORDRE : 2019

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

André QUEVAUVILLER

Pharmacien Supérieur

Licencié ès Sciences

Assistant à la Faculté de Pharmacie de Paris

1^{re} THÈSE. — Sur quelques propriétés pharmacodynamiques et physicochimiques des sels de quinine : Influence de l'acide.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le

1943, devant la Commission d'examen.

MM. JAVILLIER, *Président.*

AUBEL
MONNIER } *Examineurs.*

PARIS

JOUVE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1943

FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

Nom du Candidat : **QUEVAUVILLER.**

Prénoms : **André, Joseph, Adrien.**

Date de la soutenance :

Numéro d'ordre : 2886

1

QUEVAUVILLER (André, Joseph, Adrien). — Sur quelques propriétés pharmacodynamiques et physicochimiques des sels de quinine : Influence de l'acide. — Paris, Jouve et C^{ie}, 1943, in-8°, 234 p.

Th. Sc. Nat. Paris, 1943, Sér. A. 2019.
N° 2886.

2

QUEVAUVILLER (André, Joseph, Adrien). — Sur quelques propriétés pharmacodynamiques et physicochimiques des sels de quinine : Influence de l'acide. — Paris, Jouve et C^{ie}, 1943, in-8°, 234 p.

Th. Sc. Nat. Paris, 1943, Sér. A. 2019.
N° 2886.

3

QUEVAUVILLER (André, Joseph, Adrien). — Sur quelques propriétés pharmacodynamiques et physicochimiques des sels de quinine : Influence de l'acide. — Paris, Jouve et C^{ie}, 1943, in-8°, 234 p.

Th. Sc. Nat. Paris, 1943, Sér. A. 2019.
N° 2886.

4

QUEVAUVILLER (André, Joseph, Adrien). — Sur quelques propriétés pharmacodynamiques et physicochimiques des sels de quinine : Influence de l'acide. — Paris, Jouve et C^{ie}, 1943, in-8°, 234 p.

Th. Sc. Nat. Paris, 1943, Sér. A. 2019.
N° 2886.

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

André QUEVAUVILLER

Pharmacien Supérieur

Licencié ès Sciences

Assistant à la Faculté de Pharmacie de Paris

1^{re} THÈSE. — Sur quelques propriétés pharmacodynamiques et physicochimiques des sels de quinine : Influence de l'acide.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le

1943, devant la Commission d'examen.

MM. JAVILLIER, *Président.*

AUBEL

MONNIER

} *Examineurs.*

PARIS

JOUVE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1943

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyens honoraires . . M. MOLLIARD.

M. CH. MAURAIN.

Doyen M. P. MONTEL, *Professeur*, Théorie des fonctions.

<i>Professeurs honoraires</i>	LÉON BRILLOUIN.	G. BERTRAND.	CAULLERY.
	AUGER.	Ch. FABRY.	CARTAN.
	DANGEARD.	LÉON BERTRAND.	E. BOREL.
	LESPIEAU.	WINTREBERT.	A. COTTON.
	VESSIOT.	DUBOSCQ.	J. DRACH.
	PORTIER.	BOHN.	M. GUICHARD.
	LAPICQUE.	RABAUD.	LABROUSTE.

PROFESSEURS

Charles PÉREZ. . . T	Zoologie.	G. RIBAUD. . . . T	Hautes températures.
L. BLARINGHEM. . T	Botanique.	CHAZY T	Mécanique analytique et mécanique céleste.
G. JULIA. T	Analyse supérieure et Al- gèbre supérieure.	GAULT	Chimie (P. C. B.).
C. MAUGUIN. . . . T	Minéralogie.	CROZE T	Physique théorique et Phy- sique céleste.
A. DENJOY T	Géométrie supérieure.	DUPONT. T	Théories chimiques.
L. LUTAUD T	Géographie physique et Géologie dynamique.	VALIRON T	Calcul différentiel et in- tégral.
G. BRUHAT. . . . T	Physique.	BARRABÉ	Géologie structurale et géo- logie appliquée.
E. DARMOIS. . . . T	Enseignement de Physique.	MILLOT	Biologie animale (P. C. B.).
A. DEBIERNE . . . T	Physique générale et Ra- dioactivité.	F. FERRIN. . . .	Théories physiques.
L. DUNOYER. . . . T	Chimie physique.	VAYON T	Analyse et mesures chimi- ques.
M. JAVILLIER. . . T	Chimie biologique.	G. DARMOIS . . T	Mathématiques générales.
Henri VILLAT. . . T	Mécanique des fluides et applications.	CHATTON. . . . T	Biologie maritime.
Ch. JACOB. T	Géologie.	AUBEL	Chimie biologique.
P. PASCAL. T	Chimie générale.	J. BOURCART. .	Géographie physique et Géologie dynamique.
M. FRÉCHET. . . . T	Calcul des Probabilités et Physique mathématique.	M ^{me} JOLIOT-CURIE.	Physique générale et Radio- activité.
E. ESCLANGON. . . T	Astronomie.	PLANTEFOL. . . . T	Botanique.
H. BÉGHIN T	Mécanique physique et ex- perimentale.	CABANNES T	Recherches physiques.
FOCH T	Mécanique expérimentale des fluides.	GRASSÉ. T	Zoologie (Evolution des êtres organisés).
PAUTHENIER. . . . T	Electrotechnique générale.	PRÉVOST.	Chimie organique.
De BROGLIE. . . . T	Théories physiques.	BOULIGAND. . .	Mathématiques.
CHRÉTIEN.	Optique appliquée.	CHAUDRON . . .	Chimie (P. C. B.).
PRENANT T	Anatomie et Histologie com- parées.	WYART.	Minéralogie.
VILLEY	Mécanique physique et ex- perimentale.	TEISSIER	Zoologie.
COMBES. T	Physiologie végétale.	MANGENOT. . . .	Biologie végét. (P. C. B.)
GARNIER T	Application de l'analyse à la géométrie.	P. AUGER.	Physique.
PÉRÉS. T	Mécanique rationnelle.	MONNIER	Physiologie générale.
HACKSPILL T	Chimie minérale.	PIVETEAU	Géologie.
TOUSSAINT	Technique Aéronautique.	ROCARD	Physique.
M. CURIE	Physique (P. C. B.).	H. CARTAN. . . .	Calcul différentiel.
		SCHAEFFER. . . . T	Physiologie générale.
		LAFFITTE.	Chimie (P. C. B.).

Secrétaire..... A. PACAUD.

Secrétaire honoraire... D. TOMBECK.



A MA FEMME ET A MON FILS

A MES PARENTS

A TOUS CEUX QUI ME SONT CHERS

A MES CAMARADES DU G. S. D.
DE LA 6^{me} DIVISION D'INFANTERIE
ET DE L'OFLAG VI D.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR M. JAVILLIER

Membre de l'Académie des Sciences
Professeur à la Faculté des Sciences
et au Conservatoire des Arts et Métiers

*Qui me fait l'honneur d'accepter la présidence
de cette thèse.*

*Témoignage de respectueuse reconnaissance
pour son enseignement.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR E. AUBEL

Professeur à la Faculté des Sciences

A MONSIEUR A. M. MONNIER

Maître de Conférences à la Faculté des Sciences

*Qui ont bien voulu faire partie du jury de
cette thèse.*

Hommage de gratitude et de respect.

A MON MAÎTRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR J. RÉGNIER

Professeur de Microbiologie
à la Faculté de Pharmacie de Paris
Pharmacien des Hôpitaux



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552017_0005

**Sur quelques Propriétés
pharmacodynamiques et physicochimiques
des Sels de Quinine :
Influence de l'Acide**

AVANT-PROPOS

**Rappel de la question des nouveaux sels d'alcaloïdes
mise en lumière par J. Régnier.**

**Problème posé et recherches entreprises
avec les sels de quinine.**

Les alcaloïdes employés en thérapeutique sont généralement utilisés sous forme de sels. Ceci est dû aux propriétés physiques de ces corps à caractères basiques qui sont solubles dans les lipides et les solvants organiques, mais, pour la plupart, insolubles dans l'eau. La saturation de la base par un acide provoque la transformation en sels qui sont solubles dans les milieux aqueux et qui deviennent ainsi plus facilement utilisables.

Les formes salines employées remontent, pour certaines, à la découverte de l'alcaloïde et sont principalement des sels d'acides minéraux, en général stables, bien cristallisés et parfaitement définis. Citons par exemple : le chlorhydrate de morphine, le chlorhydrate de cocaïne, le bromhydrate de quinine, le nitrate de pilocarpine, le sulfate d'atropine.

Les bases, donnant naissance à des sels d'acides minéraux peu solubles ou altérables, ont été combinées à des acides organiques pour faire disparaître ces inconvénients et on a préconisé des formiate, lactate, salicylate, acétate, etc...

On a été également amené à ces combinaisons en voulant se rapprocher de la forme saline sous laquelle l'alcaloïde existe vraisemblablement à l'état naturel : tannate, quinate ; ou bien

en voulant associer aux propriétés pharmacodynamiques particulières de la base, l'action thérapeutique bien connue de certains acides déterminés ou de leurs sels alcalins : valérienate, acétyl-salicylate, arséniate, camphosulfonate...

Cependant, en ce qui concerne les anesthésiques locaux, O. GROS (115) vers 1910, constatant que l'alcalinisation des sels alcaloïdiques augmente leur valeur anesthésique, avait préconisé d'utiliser des sels d'acides faibles, en particulier les carbonates, les bicarbonates, qu'il préparait par simple mélange du chlorhydrate de la base avec les carbonates ou bicarbonates alcalins.

Il semblait ainsi résulter des recherches de O. GROS que lorsqu'on fait agir une solution aqueuse d'un sel d'alcaloïde sur une cellule vivante, seule agit la base alcaloïdique libérée par hydrolyse du sel.

Ces conclusions de l'auteur allemand étaient en accord avec la théorie de MEYER-OVERTON qui, posant l'existence d'une couche lipodique à la surface de la cellule, admet que l'alcaloïde base, seule soluble dans les lipides, pourrait seule se dissoudre dans cette couche et par suite, produire une action réelle.

Ces conceptions ont été appuyées plus récemment par les travaux de TREVAN et BOOCK (320), de GARDNER, SEMB et GRAHAM (100), et KURT MEYER et HEMMI (199).

Mais ces données, du point de vue pratique, ne furent pas couronnées de succès, en raison du pH trop élevé des solutions, défavorable à leur stérilisation et à leur conservation.

Les travaux de J. RÉGNIER sur les anesthésiques locaux, l'ont amené à une conception entièrement nouvelle du mode de perméation des alcaloïdes dans la cellule. Pour lui, l'acide n'a pas simplement pour fonction de solubiliser la base dans l'eau. Contrairement à la théorie de O. GROS, l'acide n'a pas pour but de permettre une plus ou moins grande hydrolyse du sel, il permet selon sa qualité, le passage plus ou moins facile de l'alcaloïde dans la cellule ; par conséquent, sans être actif lui-même, il intervient de façon prépondérante dans l'activité du sel alcaloïdique.

La théorie de J. RÉGNIER s'appuie sur des faits expérimentaux que nous allons rappeler :

En 1934, J. RÉGNIER et R. DAVID (249) cherchant les meilleures conditions de conservation des solutions de chlorhydrate de cocaïne, utilisèrent différents tampons, en vue d'obtenir des

solutions dont la stérilisation n'altérerait pas l'activité. Au cours de leurs essais, ils s'aperçurent que les solutions tamponnées par des phosphates devenaient peu actives après leur passage à l'autoclave ; par contre, les solutions tamponnées par des acétates, présentaient une activité supérieure à celle des solutions faites en présence de phosphates. Ce phénomène fit supposer à ces auteurs que l'acide salifiant la base alcaloïdique avait peut-être une influence sur son activité. Ils entreprirent alors toute une série d'expériences avec de très nombreux sels de cocaïne (250), en cherchant le degré d'anesthésie obtenue sur la cornée du Lapin, suivant la technique de mesure mise au point par J. RÉGNIER (243).

Si l'on prend comme unité l'activité du chlorhydrate de cocaïne, on obtient, pour les différents sels, les résultats suivants :

Citrate.....	0,2
Lactate.....	0,4
Tartrate.....	0,6
Sulfate.....	0,8
Phosphate et iodhydrate.....	1
Sulfocyanate.....	1,5
Formiate.....	2,5
Acétate.....	2,9
Salicylate.....	4
Benzoate.....	5
Phénylacétate.....	12

Ces résultats surprenants montrent que l'activité de la cocaïne peut varier d'une manière considérable suivant l'acide qui salifie la base.

Quels sont les facteurs déterminant cette variation ?

Les chiffres obtenus montrent clairement que la force de l'acide n'est pas la cause de l'activité du sel ; dans ce cas, les sels minéraux auraient dû être les plus actifs.

D'autre part, les sels classés suivant l'intensité de leur action ne s'ordonnent pas selon leur degré d'hydrolyse. On ne peut donc admettre que l'accroissement de l'activité soit dû à une plus grande quantité de base mise en liberté.

La liposolubilité des sels n'explique pas davantage le phénomène qui nous occupe, car l'action croît dans un ordre différent de celui de la dissolution dans les lipides.

On trouve, au contraire, suivant l'activité croissante des sels,

une série analogue à celle de HOFMEISTER (126) pour l'influence des sels alcalins sur le gonflement de la gélatine, ou, dans l'ordre inverse, pour la floculation des albumines.

J. RÉGNIER et R. DAVID ont également remarqué que les sels les plus actifs sont ceux qui sont le plus facilement absorbés par la cornée ; ce fait laissait supposer le rôle important que doit jouer la pénétration plus ou moins facile du sel dans la cellule.

Après avoir montré l'influence de l'acide salifiant la cocaïne sur son activité, J. RÉGNIER reprit cette étude avec R. DELANGE et R. DAVID (256) pour de très nombreux sels de para-aminobenzoyldiéthylaminoéthanol (base de la novocaïne). Il observa que certains acides peuvent annihiler presque complètement l'activité de la base anesthésique (acide orthophtalique, acide hippurique, acide nicotique), alors que d'autres sels (phénylbutyrate, undécolate, phénylbutylacétate) présentent un pouvoir anesthésique intense, cinquante à soixante fois supérieur à celui du chlorhydrate.

Le pouvoir anesthésique du sel augmente avec le nombre des atomes de carbone de l'acide utilisé, particulièrement pour la série benzoïque. Il diminue avec l'introduction de toute fonction supplémentaire ($\text{CO}_2\text{H} - \text{OH} - \text{NH}_2 - \text{Br} - \text{liaison éthylique}$), d'autant plus que celle-ci est placée plus près de la fonction acide.

Cette influence de l'acide salifiant la base anesthésique est également perceptible sur d'autres organes que la cornée.

J. RÉGNIER et nous-même (261), avons montré que les mêmes différences d'activité se retrouvaient sur les nerfs moteurs et sensitifs de *Rana esculenta* ; en particulier, sur la fibre motrice, le phénylpropionate de novocaïne est 5 à 7 fois plus anesthésique que le chlorhydrate, lui-même 8 à 10 fois plus actif que le citrate. ADAMI ENRICO (4) confirmant ces recherches sur le sciatique de Cobaye, attribue au phénylpropionate une valeur anesthésique 3 à 4 fois plus grande que celle du chlorhydrate.

Sur des organismes entiers, comme les épinoches, des résultats comparables furent encore obtenus par J. RÉGNIER, R. DAVID et R. SITRI (255). De plus, il fut constaté (essais de J. RÉGNIER, S. LAMBIN et E. SZOLLOSI (260)) que la toxicité des différents sels pour la Souris, tout en restant proche de celle du chlorhydrate, varie également avec l'acide.

Enfin, le même phénomène est perceptible au niveau de la

cellule. Les recherches de J. RÉGNIER avec R. DAVID et S. BAZIN (252) d'une part sur *Elodea canadensis* pour les sels de cocaïne, avec nous-même d'autre part sur *Ascoïdea rubescens* (265) pour les sels de novocaïne, ont montré que, là encore, l'activité croît dans le sens : citrate, chlorhydrate, phénylpropionate. Notons, ainsi que l'a vérifié J. RÉGNIER et comme l'a rapporté J. GILLET (109), que l'acide phénylpropionique n'a pas de propriétés anesthésiques locales et que son sel de sodium n'agit pas plus que le chlorure de sodium sur les divers tests pharmacodynamiques utilisés.

Tous ces travaux démontrent bien que l'acide salifiant les bases anesthésiques locales influe beaucoup sur leur activité, et cela, sur des objets très divers.

Cette constatation est en contradiction, répétons-le, avec la théorie des auteurs allemands qui pensent que la partie active du sel alcaloïdique en solution dans l'eau est la petite quantité de base libérée par hydrolyse. Elle s'oppose également à la vieille théorie classique qui, assimilant les sels d'alcaloïdes aux sels ammoniacaux et aux sels minéraux, admet que l'activité est due aux ions. J. RÉGNIER arrive donc à la notion de l'activité de la molécule saline alcaloïdique entière.

Mais J. RÉGNIER ne s'est pas contenté d'observer des faits et de les faire entrer dans une théorie *a priori*. Il a essayé de les comprendre et d'étayer sa conception par de nouvelles données expérimentales dans le domaine physico-chimique.

Pour cela, il a poursuivi l'étude systématique de la variation des propriétés des sels de bases anesthésiques locales suivant l'acide qui les salifie et tout particulièrement des propriétés susceptibles de jouer un rôle dans les processus de perméation à travers la couche limitante.

C'est ainsi qu'ont été successivement examinées avec R. DAVID (251) les modifications de la tension superficielle, avec nous-même et A. FIEYRE de la rapidité de diffusion libre (267) ou ralentie par un septum inerte (268), avec J. GUÉNIN (270) de gonflement de gels divers, avec R. DAVID et P. JEAN (253) d'adsorption en présence de charbon végétal, avec M. ARDITI, S. BAZIN et S. CHANTEREAU de dissociation (245), d'hydrolyse (246), de point de congélation (247), avec nous-même et P. GÉRARD (269) de solubilité, avec S. BAZIN et J. PELLETIER (248) de floculation de sols colloïdaux, etc... Cet ensemble de recherches,

encore actuellement en cours, permet déjà de voir qu'aucun des phénomènes étudiés n'est responsable, à lui seul, de la vitesse plus ou moins grande de pénétration ou de fixation au niveau de la cellule, des divers sels des bases anesthésiques locales.

Cette influence de l'acide qui les salifie, si bien mise en évidence avec les anesthésiques locaux, intéresse-t-elle l'action de tous les alcaloïdes ?

J. RÉGNIER a entrepris toute une série de recherches dans cette voie et de nombreux résultats ont été déjà publiés avec la morphine et l'atropine.

L'action inhibitrice de la morphine sur la cellule nerveuse a été étudiée par J. RÉGNIER et nous-même sur le nerf moteur de *Rana esculenta* (262). Nous avons retrouvé là encore, l'ordre observé pour les anesthésiques, à savoir que le citrate est moins actif que le chlorhydrate, tandis que le phénylpropionate l'est davantage.

Par contre, J. RÉGNIER et S. LAMBIN (258) trouvèrent des résultats différents par injection intraveineuse au Lapin, pour la mesure de la dépression du réflexe oculo-palpébral : l'action du citrate est plus forte que celle du chlorhydrate, elle-même supérieure à celle du phénylpropionate. Ce fait, en apparence contradictoire avec les résultats précédents, s'explique par l'élimination différente des sels étudiés. J. RÉGNIER et S. LAMBIN (259) ont montré, en effet, que l'élimination urinaire du phénylpropionate de morphine est beaucoup plus rapide que celle du citrate ; quant au chlorhydrate, il provoque des troubles de la diurèse qui interdisent toute mesure.

Etudiant l'action mydriatique de l'atropine sur l'œil énucléé de Grenouille, J. RÉGNIER et nous-même (266) avons obtenu les résultats suivants : le sulfate est très actif, le phénylpropionate l'est moins et produit un effet toxique par désagrégation des pigments de l'iris ; quant au citrate, il provoque un myosis croissant avec la concentration de la solution.

Les sels d'atropine ont donc aussi une activité très variable suivant l'acide qui salifie la base, l'influence de l'acide pouvant même amener le renversement de l'action médicamenteuse habituelle.

Désireux de poursuivre cette étude avec d'autres alcaloïdes, J. RÉGNIER nous a dans ces dernières années, plus spécialement confié l'examen des propriétés pharmacodynamiques et physi-

cochimiques de quelques sels de quinine. Cette recherche paraissait d'autant plus indiquée que les rares auteurs qui se sont intéressés à la question n'ont, le plus souvent, expérimenté qu'avec des sels à acide minéral et sans prendre la précaution, pour pouvoir les comparer, de les faire agir à des doses équivalentes en alcaloïde.

Parmi les propriétés pharmacodynamiques principales de la quinine, qu'il nous paraît superflu de rappeler ici (*), nous avons retenu particulièrement :

- 1° son action sur les hématozoaires du paludisme et corrélativement son action sur le sang ;
- 2° son activité anesthésique locale ;
- 3° sa toxicité ;
- 4° son élimination par les urines ;
- 5° sa propriété anti-infectieuse.

Nous avons en outre complété nos recherches sur la cellule animale et les animaux, par des essais effectués sur la cellule végétale.

Une étude pharmacologique de la quinine, fondée sur ces propriétés essentielles, est susceptible de nous apporter un faisceau de données expérimentales suffisant pour comparer l'activité de sels différents.

Malheureusement, l'étude des propriétés antipaludiques ne peut se faire expérimentalement que par des techniques, comme celle de W. ROEHL (278) sur la malaria du Canari, à *Plasmodium relictum*, ou comme celle de COLLIER et KRAUSE (52) chez le Calfat avec l'*Hæmoproteus paddae*. Pour des raisons matérielles, il ne nous a pas été possible de les mettre en œuvre (**), puisqu'il nous eût fallu posséder une volière et nous procurer des Canaris, ce qui s'avérerait très difficile, surtout dans les circonstances présentes.

Bien que le paludisme ne puisse plus être considéré comme une simple maladie sanguine, mais, d'après SIGAULT et MESSERLIN (301) « comme une maladie du système réticulo-endothélial, avec atteinte secondaire du sang », la toxicité de la quinine pour

(*) Voir E. ZUNZ (339), A. RICHAUD et R. HAZARD (274), L. DESTOUCHES (62), E. ROHDE (279) et FR. JOHANNESSEN (134).

(**) Une revue très documentée de ces techniques a été récemment publiée par L. LAUNOY et H. LAGODSKY (169).

les schizontes, forme du parasite souvent endoglobulaire, nous a fait considérer que l'action de l'alcaloïde peut comporter deux phases : la première de fixation ou de pénétration sur ou à l'intérieur de l'hématie, la seconde de toxicité à l'égard du protozoaire lui-même.

Nous avons donc décomposé notre recherche en étudiant, d'une part la fixation de la quinine sur les globules rouges, soit directement par extraction puis dosage, soit indirectement par son action hémolytique ; d'autre part, sa toxicité pour certains protozoaires.

Notre travail se présente donc comme il suit : dans l'*introduction* nous présentons les sels de quinine utilisés, en donnant leur mode de préparation et quelques-unes de leurs propriétés physiques : point de fusion, solubilité, pouvoir rotatoire, p^H des solutions aqueuses, etc... que nous avons déterminées. Nous passons en revue les méthodes de microdosage de l'alcaloïde que nous avons été amené à employer au cours des recherches.

Dans la *première partie* nous étudions sur la cellule animale (Protozoaires, hématies de Porc), sur les organes (cornée du Lapin, nerf moteur de Grenouille), sur l'organisme entier (toxicité, élimination urinaire, action anti-infectieuse chez la Souris), l'action pharmacodynamique des sels les plus caractéristiques. Nous complétons cette étude par l'action de la quinine sur la cellule végétale (Phytoflagellé et hyphes d'*Ascoidea rubescens*).

Dans la *deuxième partie* nous cherchons à comprendre les différences constatées dans l'activité des sels, en étudiant leurs propriétés physico-chimiques capables d'intervenir essentiellement dans leur pouvoir de perméation à travers la couche limitante.

C'est ainsi que, comme l'a fait J. RÉGNIER avec ses collaborateurs, nous examinons successivement : la dissociation des différents sels en solutions aqueuses déterminée par la mesure des conductivités, en même temps que le p^H à diverses dilutions, à seule fin de connaître non seulement le degré de dissociation, mais encore celui d'hydrolyse. Nous étudions ensuite la vitesse de diffusion, soit libre dans l'eau distillée, soit ralentie par un septum de cellophane ou un gel de gélatine ou d'agar-agar.

Après avoir examiné le gonflement de la gélatine en présence des solutions aqueuses des sels de quinine, nous terminons l'étude

physico-chimique par la mesure de la tension superficielle de ces solutions.

Enfin, après avoir résumé l'ensemble des faits mis ainsi en évidence, nous comparons dans la *conclusion* les résultats obtenus du point de vue pharmacodynamique avec les propriétés physiques et physico-chimiques des différents sels et nous essayons de dégager dans quelles mesures celles-ci influencent ceux-là.

Ceci nous permet, en connaissant mieux les conditions d'action des sels de quinine, d'apporter une contribution au problème pharmacologique par excellence, celui des rapports qui lient la constitution chimique aux propriétés pharmacodynamiques des substances médicamenteuses.

Nous ne voulons pas commencer l'exposé de nos recherches bibliographiques et expérimentales sans dire à notre Maître, M. le Professeur J. RÉGNIER, pharmacien des Hôpitaux, combien nous le remercions de nous avoir proposé cette étude et conseillé dans son élaboration. En nous choisissant pour Aide-technique scientifique, puis pour Assistant à la Faculté de Pharmacie, il nous a permis de la mener à son terme. Depuis bientôt neuf ans que nous travaillons sous sa direction, il n'a jamais cessé de nous guider et de nous encourager aux moments difficiles, aussi est-ce avec reconnaissance que nous lui exprimons ici toute notre affection respectueuse.

M. le Professeur M. JAVILLIER, Membre de l'Académie des Sciences, a bien voulu accepter la présidence de cette thèse. Nous l'en remercions très respectueusement et sommes heureux de lui dire combien nous lui sommes redevable de son enseignement.

Nous exprimons à M. le Professeur E. AUBEL et à M. A.-M. MONNIER, Maître de Conférences à la Faculté des Sciences, qui ont bien voulu faire partie de notre jury, toute notre respectueuse reconnaissance.

Que M. G. VALETTE, Maître de Conférences et M. R. DAVID, Chef de Travaux pratiques à la Faculté de Pharmacie, sous l'autorité desquels nous avons exercé comme moniteur aux Travaux pratiques de Microbiologie, trouvent ici le témoignage de notre bien sincère gratitude.

Nous tenons aussi à adresser tous nos remerciements à M. R. DE-

LANGE, Chef des Services scientifiques des Fabriques de Laire, dont la complaisance à notre égard et les grandes connaissances chimiques furent bien souvent mises à contribution.

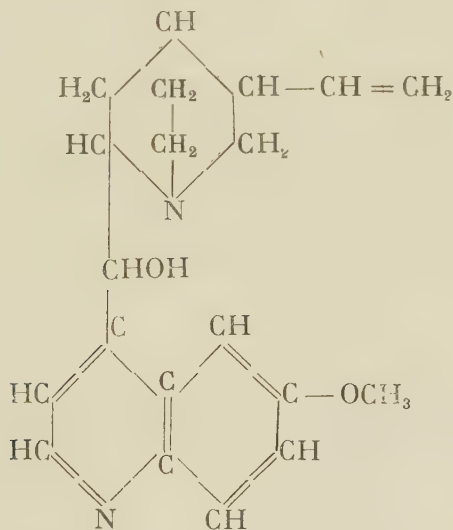
Enfin, nous remercions nos camarades de laboratoire, en particulier M^{lle} S. LAMBIN, Docteur ès Sciences, Assistante à la Faculté de Pharmacie, de son amicale sollicitude, et Suzanne BAZIN, Hélène MORIN, René LORY de leur sympathie et de l'aide qu'ils nous ont bien souvent apportée lorsque nous étions retenu par nos fonctions.

INTRODUCTION

Sels de quinine étudiés. Propriétés physiques. Méthodes de microdosages.

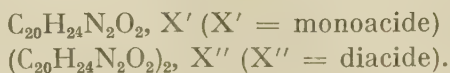
Sels de quinine étudiés.

On trouve dans LEBEAU et COURTOIS (170) que la quinine, ou éther méthylique de la cupréine, répond à la formule ci-dessous. Les fonctions remarquables sont l'existence d'un noyau quino-
léique relié par une fonction alcool secondaire à un noyau qui-
nuclidique porteur d'une chaîne vinylée.

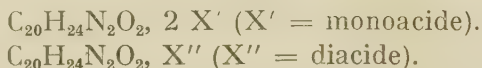


C'est un alcaloïde bibasique qui donne deux sortes de sels :
basiques et neutres suivant qu'il est combiné à une seule ou à
deux molécules d'acide supposé monovalent.

Les sels basiques, autrefois appelés sels neutres parce qu'ils sont sensiblement neutres au tournesol, sont peu solubles dans l'eau, ils répondent à la formule générale :



Les sels neutres, encore désignés, improprement d'ailleurs, sous le nom de sels acides, en raison de leur acidité au tournesol, sont au contraire facilement solubles dans l'eau. Leur formule générale est la suivante :



Les sels de quinine présentent une amertume caractéristique. Ils dévient à gauche la lumière polarisée, ils sont fluorescents aux rayons ultra-violets et fournissent les réactions de la quinine (réactions générales des alcaloïdes, réaction de la thalléio-quinine, de l'érythroquinine, etc.).

Nous avons retenu pour notre étude *quatorze sels basiques*. Le choix des sels basiques a été commandé par la nécessité d'obtenir des solutions aqueuses de pH aussi voisins que possible et se rapprochant de $\text{pH} = 7$ afin de pouvoir les expérimenter directement sur la cellule sans faire intervenir, par une concentration en ions H^+ trop forte, d'autres actions que celle de l'alcaloïde lui-même. Les sels ont été choisis de façon à pouvoir discerner les variations apportées dans leurs propriétés :

1^o Par un acide minéral et sa valence :

Chlorhydrate,
Bromhydrate,
Sulfate.

2^o Par un acide organique comportant une chaîne aliphatique plus ou moins longue :

Formiate,
Isobutyrate,
Valérianate.

3^o Par un acide organique comportant un noyau aromatique avec addition, ou non, d'une chaîne grasse de longueur variable :

Benzoate,
Phénylacétate,
Phénylpropionate,
Phénylbutyrate.

4° Par un acide organique comportant une ou plusieurs fonctions alcools accompagnées ou non d'une fonction acide libre :

Lactate,
Quinate,
Gluconate,
Citrate.

La moitié des sels étudiés provenait du commerce, les autres : citrate, gluconate, quinate, phénylacétate, phénylpropionate, phénylbutyrate, isobutyrate ont été préparés de toutes pièces *.

Nous allons passer en revue ces différents sels en indiquant leur mode de préparation et leurs propriétés physiques principales que nous avons déterminées comparativement.

Sulfate basique de quinine $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2, SO_4H_2, 2 OH_2$.

Poids moléculaire : 782,5.

Renferme 82,37 pour cent de base quinine anhydre.

1 gr. 206 de sel correspond ainsi à 1 gr. de base. C'est la forme saline sous laquelle la quinine est isolée à partir des écorces de quinquina. Il sert à la préparation industrielle de tous les autres sels de quinine. Aiguilles prismatiques, clinorhombiques, incolores, transparentes, de saveur très amère.

Bromhydrate basique de quinine $C_{20}H_{24}N_2O_2, BrH, OH_2$.

Poids moléculaire : 423,1.

Renferme 76,60 pour cent de quinine.

1 gr. 305 de sel correspond à 1 gr. de base.

On le prépare par double décomposition à l'ébullition entre le sulfate basique de quinine et le bromure de baryum en proportions convenables. Le liquide est filtré, puis évaporé pour cristallisation.

(*) Nous remercions M. R. DELANGE, chef des services scientifiques des fabriques de Laire, d'avoir bien voulu mettre à notre disposition sa haute science de tout ce qui touche la synthèse des alcaloïdes et de leurs sels et de nous avoir, avec une amabilité inlassable, préparé les produits qui nous étaient nécessaires.

Ce sel cristallise avec une molécule d'eau en aiguilles incolores, fines, soyeuses, de saveur amère.

Chlorhydrate basique de quinine : $C_{20}H_{24}N_2O_2$, ClH , $2 OH_2$.

Poids moléculaire : 396,7.

Renferme 81,71 pour cent de quinine.

1 gr. 225 de sel correspond à 1 gr. de base.

On le prépare comme le bromhydrate, à partir du sulfate basique, en remplaçant le bromure de baryum par le chlorure de baryum. Par refroidissement de sa solution aqueuse il cristallise avec deux molécules d'eau.

Fines aiguilles longues, soyeuses, incolores, de saveur amère.

Formiate basique de quinine : $C_{20}H_{24}N_2O_2$, $H-CO_2H$, OH_2 .

Poids moléculaire : 388,2.

Renferme 83,5 pour cent de quinine.

1 gr. 197 de sel correspond à 1 gr. de base.

On le prépare en milieu aqueux, ou mieux hydroalcoolique, par action de l'acide formique sur l'hydrate de quinine.

La solution concentrée laisse déposer le sel par refroidissement. Cristallise avec une molécule d'eau et se présente en cristaux aiguillés blancs, de saveur amère.

Isobutyrate basique de quinine : $C_{20}H_{24}N_2O_2$, $(CH_2)_2-CH-CO_2H$.

Poids moléculaire : 412.

Renferme 78,6 pour cent de quinine.

1 gr. 271 de sel correspond à 1 gr. de base.

Il a été préparé en dissolvant 75 gr. 60 de quinine hydratée dans 750 cc. d'eau, au moyen de 17 gr. 60 d'acide isobutyrique. On filtre sur noir à 70°, chasse l'eau dans le vide et obtient une précipitation du sel qu'on essore. On a obtenu 68 gr. de sel.

A 100° ce sel se rélargue de ses solutions assez concentrées pour se dissoudre à froid.

Petits cristaux anhydres, incolores, à forte odeur butyrique, de saveur amère.

Valérianate basique de quinine : $C_{20}H_{24}N_2O_2$, $CH_3-(CH_2)_3-CO_2H$.

Poids moléculaire : 426,3.

Renferme 76,05 pour cent de quinine.

1 gr. 314 de sel correspond à 1 gr. de base.

On le prépare en neutralisant au moyen d'acide valérianique officinal, la quinine en solution concentrée.

La solution est additionnée de deux volumes d'eau et concentrée au-dessous de 50°.

Cristaux prismatiques anhydres, incolores, brillants, à odeur de valériane et de saveur amère.

Benzoate basique de quinine : $C_{20}H_{24}N_2O_2$, $C_6H_5-CO_2H$.

Poids moléculaire : 446,2.

Renferme 72,65 pour cent de quinine.

1 gr. 376 de sel correspond à 1 gr. de base.

On peut le préparer en ajoutant peu à peu du sulfate de quinine à une solution aqueuse bouillante de benzoate de sodium.

D'après « *Hager's Handbuch der pharmazeutischen Praxis* » on l'obtient également en faisant dissoudre 10 parties d'acide benzoïque dans 60 parties d'alcool et en neutralisant cette solution avec 31 parties d'hydrate de quinine. Le sel cristallise anhydre par évaporation à chaud.

Fins cristaux blancs, prismatiques, à très légère odeur benzoïque, de saveur amère.

Phénylacétate basique de quinine : $C_{20}H_{24}N_2O_2$, $C_6H_5-CH_2-CO_2H$.

Poids moléculaire : 460.

Renferme 70,4 pour cent de quinine.

1 gr. 42 de sel correspond à 1 gr. de base.

Pour le préparer on dissout 50 gr. de quinine hydratée dans 250 gr. d'alcool absolu et ajoute 18 gr. 10 d'acide phénylacétique. On évapore à sec et obtient 58 gr. de sel.

Poudre blanche à odeur phénylacétique, de saveur amère.

Phénylpropionate basique de quinine (Hydrocinnamate) : $C_{20}H_{24}N_2O_2$, $C_6H_5-CH_2-CH_2-CO_2H$, OH_2 .

Poids moléculaire : 492.

Renferme 65,8 pour cent de quinine.

1 gr. 52 de sel correspond à 1 gr. de base.

Pour le préparer on dissout 30 gr. d'acide phénylpropionique dans 100 cc. d'acétone et ajoute une solution de 75 gr. de quinine hydratée dans 650 cc. d'acétone. On amorce la cristallisation. On essore les cristaux, on lave avec un peu d'acétone, on sèche à l'air dans une armoire vitrée.

Petits cristaux blancs, à odeur prononcée d'acide phénylpropionique, de saveur amère.

Phénylbutyrate basique de quinine : $C_{20}H_{24}N_2O_2$, $C_6H_5-CH_2-CH_2-CH_2-CO_2H$.

Poids moléculaire : 488.

Renferme 66,4 pour cent de quinine.

1 gr. 506 de sel correspond à 1 gr. de base.

Il a été préparé en dissolvant 76 gr. de quinine hydratée dans 650 cc. d'acétone et en ajoutant à cette solution celle de 33 gr. d'acide phénylbutyrique dans 100 cc. d'acétone. On évapore à 200 cc. Le sel cristallise, on l'essore, on le lave avec un peu d'acétone et on sèche à l'air dans une armoire vitrée.

Cristaux incolores, à odeur d'acide phénylbutyrique, de saveur amère.

Lactate basique de quinine : $C_{20}H_{24}N_2O_2$, $CH_3-CHOH-CO_2H$.

Poids moléculaire : 414,2.

Renferme 78,26 pour cent de quinine.

1 gr. 277 de sel correspond à 1 gr. de base.

On l'obtient par dissolution à l'ébullition de l'hydrate de quinine en excès dans une solution aqueuse d'acide lactique. On filtre le liquide bouillant et on laisse cristalliser par refroidissement.

Aiguilles prismatiques de saveur amère.

Quinate basique de quinine : $C_{20}H_{24}N_2O_2$, $C_6H_7(OH)_4-CO_2H$, OH_2 .

Poids moléculaire : 534.

Renferme 60,6 pour cent de quinine.

1 gr. 648 de sel correspond à 1 gr. de base.

Pour l'obtenir, on dissout 50 gr. de quinine hydratée dans 150 gr. d'alcool à 97° et on ajoute une solution de 27 gr. 9 d'acide quinique dans 200 gr. d'alcool à 90° à chaud. Après filtration sur noir et réduction des alcools dans le vide, on obtient 50 gr. de sel essoré et lavé.

Ce sel cristallise avec une molécule d'eau et ne peut être obtenu cristallisé en milieu aqueux ou même hydro-alcoolique.

Petits cristaux blancs de saveur amère.

Gluconate basique de quinine : $C_{20}H_{24}N_2O_2$, $CH_2OH-(CHOH)_4CO_2H$, 2 OH_2 .

Poids moléculaire : 556.

Renferme 58,2 pour cent de quinine.

1 gr. 71 de sel correspond à 1 gr. de base.

On peut le préparer par deux méthodes :

1° On dissout 1/10^e de molécule de quinine hydratée (soit 38 gr.) dans 1 litre d'eau, au moyen d'acide chlorhydrique, en employant la quantité calculée correspondant à 1/10^e de molécule. On ajoute une solution de 22 gr. de gluconate de sodium dans 100 cc. d'eau, et réduit la solution obtenue aux 2/5^e. On se procure une amorce en réduisant fortement une petite partie de la liqueur, on amorce et obtient le gluconate de quinine qui cristallise avec un long retard. On essore ensuite et lave à l'eau. Ce sel est assez soluble dans l'eau pour empêcher de faire de nombreux lavages. Obtenu : 20 gr.

2° En dissolvant 76 gr. de quinine dans la quantité équimoléculaire d'acide gluconique à 10 pour cent et en amorçant la solution, on obtient aussi le sel de quinine (65 gr. obtenus après réduction à 300 cc.).

Ce sel cristallise avec deux molécules d'eau.

Citrate basique de quinine ($C_{20}H_{24}N_2O_2$)₂, $C_6H_8O_7$.

Poids moléculaire : 840,6.

Renferme 77 pour cent de quinine.

1 gr. 30 de sel correspond à 1 gr. de base.

Pour le préparer on dissout 95 gr. de quinine dans 1.200 gr. d'eau contenant 9 gr. 125 d'acide chlorhydrique. On ajoute une solution de 26 gr. 25 d'acide citrique ordinaire dans 100 gr. d'eau contenant 10 gr. de soude réelle. Le citrate cristallise aussitôt et est recueilli et lavé.

Poids obtenu : 52 gr.

Fines aiguilles blanches de saveur amère.

Propriétés physiques.

POINTS DE FUSION.

Bien que la détermination du point de fusion des sels de quinine soit assez aléatoire du fait de la plus ou moins grande pureté de la base qui n'est jamais exempte de traces des autres alcaloïdes du quinquina, du fait aussi que quelques-uns des sels

fondent en se décomposant, nous avons toutefois procédé à cette recherche de façon comparative, pour définir en quelque sorte les sels que nous avons employés et voir si la série obtenue, en les classant du plus au moins fusible, pouvait s'expliquer par les différences de constitution de l'acide salifiant.

Nos déterminations ont été faites au tube de *Thiele* à double enceinte, quelques parcelles du produit étant introduites dans de petits tubes de verre de 1/2 mm. de diamètre. Le chauffage a été réglé de telle sorte que l'ascension du thermomètre était de 1° à la minute environ. La température notée est la température la plus basse à laquelle un début de fusion a été constaté.

Valérianate.....	P. F. = 80°
Phénylpropionate.....	P. F. = 96°
Isobutyrate.....	P. F. = 109°
Formiate.....	P. F. = 119°
Chlorhydrate.....	P. F. = 125°
Phénylbutyrate.....	P. F. = 126°
Bromhydrate.....	P. F. = 135°
Gluconate.....	P. F. = 144°
Phénylacétate.....	P. F. = 146°
Lactate.....	P. F. = 168°
Benzoate.....	P. F. = 172°
Quinate.....	P. F. = 198° et se décompose
Citrate.....	P. F. = 201° —
Sulfate.....	P. F. = 220° —

Nous constatons, aussi bien pour les sels à acides aliphatiques qu'à acides aromatiques, que la température de fusion est d'autant plus basse que le nombre d'atomes de carbone de la chaîne grasse est plus élevé. Une exception toutefois : celle du phénylbutyrate.

Le point de fusion des sels à acides dont le radical est oxygéné apparaît plus élevé que pour les autres.

SOLUBILITÉ.

Nous avons déterminé comparativement la solubilité de nos sels de quinine dans trois solvants : l'eau, l'alcool, l'éther.

Tous les sels ont été étudiés en même temps de façon à rendre semblables, pour chacun d'entre eux, toutes les conditions extérieures de l'expérience. Notre but n'était pas, en effet, la

détermination de la solubilité d'un sel à la température de 15° ainsi que l'on a coutume de la définir, mais bien plutôt la variation de la solubilité selon la constitution chimique des différents acides salifiants, dans les mêmes conditions de traitement, de température, etc...

1° *Solubilité dans l'eau distillée :*

Tous les sels ont été pulvérisés au mortier de verre. 1 gr. de sel pulvérisé a été introduit dans un tube à essai Pyrex avec 5 cc. d'eau bidistillée de pH = 5,6-5,8. Tous les tubes ont été agités pendant 12 heures à raison de 250 oscillations à la minute environ, la température du laboratoire étant de 23°-25°. Dans le cas de certains sels peu solubles (sulfate, citrate...) on a constaté la formation d'un magma remplissant toute la lumière du tube. 5 cc. d'eau bidistillée ont été ajoutés de nouveau et ces tubes agités de même façon.

On a filtré et pesé 1 gr. environ de solution saturée par double pesée, dans un cristalliseur taré. On a porté à l'étuve à 100° jusqu'à poids constant. On a ainsi obtenu des résidus de sels anhydres. On a tenu compte de ce fait pour le calcul de la quantité de sel de départ ou de base soluble dans la quantité d'eau éliminée par évaporation.

Voici les résultats obtenus dans une expérience faite avec le chlorhydrate, à seule fin de préciser les opérations effectuées :

Tare = cristalliseur + 1 gr. 0495.

Tare = cristalliseur + solution saturée + 0 gr. 040.

Prise d'essai = 1 gr. 0095.

Après dessiccation à 100° jusqu'à poids constant :

Tare = cristalliseur + chlorhydrate anhydre + 1 gr. 0095.

Résidu sec = 0 gr. 04.

0 gr. 04 de chlorhydrate anhydre est donc soluble dans :

1 gr. 0095 — 0 gr. 04 = 0 gr. 9695 d'eau bidistillée.

Or 0 gr. 04 de chlorhydrate anhydre correspond à :

$$\frac{396,7 \times 0,04}{360,7} = 0 \text{ gr. } 044, \text{ de chlorhydrate basique à}$$

2 molécules d'eau.

Une partie de chlorhydrate basique est donc soluble dans :

$$\frac{0,9695 (*)}{0,044} = 22 \text{ parties d'eau bidistillée environ.}$$

Pour connaître la solubilité de la base à l'état de chlorhydrate, nous avons procédé au calcul suivant :

0 gr. 04 de chlorhydrate anhydre correspond à :

$$\frac{324 \times 0,04}{360,7} = 0 \text{ gr. 036 de base.}$$

Une partie de base à l'état de chlorhydrate est donc soluble dans :

$$\frac{0,9695}{0,036} = 26,9 \text{ parties d'eau bidistillée.}$$

Les résultats que nous présentons ci-dessous ont été obtenus à partir de plusieurs expériences simultanées pour tous les sels et effectuées à la température de 23°-25°.

a) Solubilité rapportée au sel basique :

Une partie de :

gluconate	est soluble dans	4,8 parties d'eau bidistillée.
quinate	—	7,1 —
lactate	—	9 —
chlorhydrate	—	20,8 —
formiate	—	25,8 —
isobutyrate	—	29 —
bromhydrate	—	47 —
valérianate	—	79 —
benzoate	—	374,5 —
phénylacétate	—	426 —
phénylpropionate	—	517 —
phénylbutyrate	—	594 —
citrate	—	605 —
sulfate	—	637 —

(*) L'erreur apportée par le départ de l'eau de cristallisation, qui devrait être déduite du poids du solvant, est négligeable.

b) Solubilité rapportée à la base :

Une partie de base est soluble dans :

8,3	parties d'eau bidistillée à l'état de :	gluconate
11,4	—	lactate
11,8	—	quinate
25,5	—	chlorhydrate
31	—	formiate
36,8	—	isobutyrate
61,4	—	bromhydrate
103,5	—	valérianate
513	—	benzoate
602	—	phénylacétate
769	—	sulfate
786	—	citrate
787	—	phénylpropionate
893	—	phénylbutyrate

Nous constatons ainsi, tant en ce qui concerne la solubilité du sel que la solubilité rapportée à la base, que pour les sels à acides aliphatiques ou aromatiques, l'allongement de la chaîne grasse diminue la solubilité dans l'eau (Formiate > isobutyrate > valérianate—benzoate > phénylacétate > phénylpropionate > phénylbutyrate). Les fonctions alcools secondaires favorisent grandement cette solubilité et le sel est d'autant plus soluble qu'il contient plus de fonctions alcools (gluconate > quinate > lactate). L'introduction d'un noyau benzénique (formiate > benzoate) et de fonction alcool tertiaire et acide libre (citrate) la diminue considérablement.

Les résultats que nous obtenons, pour les conditions comparatives dans lesquelles nous avons opéré, s'accordent avec les données classiques et en particulier, pour les sels de quinine dont ils ont étudié la solubilité, avec les résultats de REGNAULD et VILLEJEAN (242) et ceux de HRYNAKOWSKI, CHWOJKA et ZOCHOWSKI (127).

2° Solubilité dans l'alcool absolu.

La technique fut la même que pour la détermination de la solubilité dans l'eau distillée, exception faite pour la quantité de sel mise en présence du solvant. Les sels étant en effet très

solubles dans l'alcool, ils furent ajoutés au solvant jusqu'à refus après une agitation totale de 12 heures.

Les solutions saturées furent versées dans des cristallisoirs tarés, *bouchant émeri*, afin d'éviter autant que possible les erreurs par évaporation pendant la pesée de prise d'essai. Le solvant fut chassé sous vide à la température ordinaire et les résidus séchés à 100° jusqu'à poids sensiblement constant.

La température du laboratoire, pendant la dissolution, oscilla entre 23° et 25°.

Les résultats numériques ci-dessous sont des moyennes de plusieurs expériences :

a) Solubilité rapportée au sel basique :

Une partie de :

bromhydrate	est soluble dans	0,3 partie d'alcool absolu
chlorhydrate	—	0,5 —
isobutyrate	—	0,7 —
phénylbutyrate	—	1 —
valérienate	—	1,1 parties —
phénylpropionate	—	2,0 —
formiate	—	3,0 —
phénylacétate	—	3,2 —
lactate	—	6,8 —
benzoate	—	10,4 —
gluconate	—	49 —
sulfate	—	118 —
quinate	—	153 —
citrate	—	372 —

b) Solubilité rapportée à la base :

Une partie de base est soluble dans :

0,4	partie d'alcool absolu à l'état de :	bromhydrate
0,6	—	chlorhydrate
0,9	—	isobutyrate
1,5	parties	phénylbutyrate

Une partie de base est soluble dans :

1,5 parties d'alcool absolu à l'état de :	valérianate
3,0	—
3,6	—
4,5	—
8,7	—
14,3	—
83,8	—
142	—
252	—
483	—
	phénylpropionate
	formiate
	phénylacétate
	lactate
	benzoate
	gluconate
	sulfate
	quinat
	citrate

Nous voyons donc dans ce cas, contrairement à ce qui se passe pour l'eau distillée et aussi bien pour les sels à acides aromatiques qu'aliphatiques, que l'allongement de la chaîne grasse augmente la solubilité dans l'alcool (formiate < valérianate < isobutyrate — benzoate < phénylacétate < phénylpropionate < phénylbutyrate). L'introduction d'un noyau benzénique ou de fonctions alcools diminue la solubilité (formiate > benzoate, — formiate > lactate).

Dans l'ensemble, nous trouvons en fin de série les sels qui étaient au début avec l'eau distillée. Là encore, cependant, le sulfate et le citrate sont parmi les moins solubles.

3° Solubilité dans l'éther anhydre.

La technique fut la même qu'avec l'alcool absolu, à cette différence près que les sels furent mis en présence du solvant, jusqu'à refus, dans des tubes à centrifuger et que la séparation : solution saturée — sel non dissous, fut effectuée par centrifugation. La prise d'essai, aussi rapide que possible, fut placée dans des cristallisoirs *bouchant émeri*. Le solvant fut éliminé par évaporation sous vide à la température ordinaire, puis à l'étuve à 100°. La température du laboratoire pendant les 12 heures d'agitation des sels avec l'éther anhydre varia entre 16° et 18°.

Les résultats ci-dessous expriment des moyennes à partir de plusieurs expériences.

a) Solubilité rapportée au sel basique :

Une partie de :

valérianate	est soluble dans	43,6 parties d'éther anhydre
isobutyrate	—	48,6 —
phénylbutyrate	—	109 —
phénylpropionate	—	184 —
phénylacétate	—	243 —
benzoate	—	348 —
lactate	—	828 —
formiate	—	2.383 —
quinate	—	2.573 —
bromhydrate	—	3.082 —
chlorhydrate	—	3.400 —

Les sulfate, gluconate, citrate sont insolubles.

b) Solubilité rapportée à la base.

Une partie de base est soluble dans :

57,2 parties d'éther anhydre à l'état de :	valérianate
61,7 —	isobutyrate
164 —	phénylbutyrate
280 —	phénylpropionate
345 —	phénylacétate
479 —	benzoate
1.057 —	lactate
2.840 —	formiate
4.022 —	bromhydrate
4.165 —	chlorhydrate
4.240 —	quinate

Alors que les halogénures étaient facilement solubles dans l'eau bidistillée et dans l'alcool absolu, nous les trouvons presque insolubles dans l'éther anhydre. Comme pour l'alcool, l'allongement de la chaîne grasse des acides aromatiques et aliphatiques favorise la solubilité dans l'éther (valérianate > isobutyrate > formiate — phénylbutyrate > phénylpropionate > phénylacétate > benzoate). Les fonctions alcools présentes dans l'acide diminuent fortement la solubilité du sel, mais la présence du noyau

benzénique qui abaisse la solubilité dans le cas isobutyrate — phénylpropionate, l'augmente dans le cas formiate-benzoate.

Enfin, si nous exceptons le phénylpropionate, nous constatons que les sels qui cristallisent avec des molécules d'eau sont les moins solubles dans l'éther anhydre.

POUVOIR ROTATOIRE.

La quinine est lévogyre. Cette propriété mise en évidence par BOUCHARDAT, en 1843, fut la première observation de l'action d'une base organique végétale sur la lumière polarisée.

Son pouvoir rotatoire spécifique, ainsi que l'a montré OUDEMANS (226) varie avec la nature du solvant, il croît dans le sens chloroforme < toluène < benzène < éther < alcool. Il augmente lorsque la concentration diminue et s'abaisse lorsque la température et le pH augmentent. M^{lle} LIQUIER (176) a montré qu'il varie peu, en solution sulfurique entre pH = 5,7 et pH = 7,3. Les recherches de LAPP (165) qui portent sur des solutions chlorhydriques ont mis en évidence le même phénomène entre pH = 4,5 et pH = 6,5.

A l'exception de HESSE (123), tous les auteurs ont admis, en s'appuyant sur un nombre d'ailleurs assez restreint de sels, que le pouvoir rotatoire spécifique ne dépend pas de la nature de l'acide (DE VRY et ALLUARD (63) ; OUDEMANS (227) ; M^{lle} LIQUIER (176), LAPP (165) ; CANALS, MOUSSERON et M^{lle} PERROTET (39)).

Nous avons déterminé le pouvoir rotatoire spécifique de la plus grande partie de nos sels, en solution à 1 % en base anhydre dans l'alcool absolu. Seuls les sulfate, citrate, gluconate et quinate n'ont pu être étudiés en raison de leur trop faible solubilité dans ce solvant.

L'étude fut faite au polarimètre de LAURENT à lampe à vapeurs de sodium (REICHERT). Les résultats présentés ci-dessous sont les moyennes de 8 lectures en position orthogonale, effectuées à la température de 17°.

Sels	Déviatiôn pour une solution à 1 % en base dans l'alcool absolu	α_D de la base anhydre	α_D du sel
Chlorhydrate.....	— 3°29	— 164°5	— 134°2
Bromhydrate.....	— 3°27	— 163°5	— 125°2
Formiate.....	— 3°33	— 166°5	— 139°0
Isobutyrate.....	— 3°27	— 163°5	— 128°6
Valériante.....	— 3°30	— 165°0	— 125°5
Benzoate.....	— 3°32	— 166°0	— 120°6
Phénylacétate.....	— 3°32	— 166°0	— 116°9
Phénylpropionate.....	— 3°32	— 166°0	— 109°2
Phénylbutyrate.....	— 3°32	— 166°0	— 110°2
Lactate.....	— 3°29	— 164°5	— 128°8

Aux erreurs d'expériences près, la nature de l'acide n'influence pas le pouvoir rotatoire spécifique de la quinine, en solution dans l'alcool absolu. Ces résultats montrent, en outre, que les sels ont bien la constitution chimique qui leur a été attribuée.

CONCENTRATION EN IONS HYDROGÈNE.

Afin de voir, de façon comparative, comment varie la concentration en ions H^+ des solutions aqueuses des différents sels, nous avons déterminé par colorimétrie et par électrométrie à la température de 18°, le pH de solutions fraîches à 1/1.000 de base quinine (concentration que nous avons le plus souvent utilisée, puisque c'est la concentration la plus forte en base que le peu de solubilité de certains de nos sels dans l'eau nous permet).

La détermination par colorimétrie a été effectuée à l'aide des indicateurs et du comparateur de HELIGE, d'une part avec la série d'indicateurs bicolores de CLARK et LUBS, d'autre part avec les indicateurs monocolores de MICHAËLIS.

Dans le premier cas, le pH de la plupart des sels correspondait à la teinte sensible du pourpre de bromocrésol, mais nous avons constaté que la quinine modifie de telle façon la teinte fondamentale de ce colorant que toute détermination était impossible.

Nous avons employé le rouge de méthyle et le bleu de bromothymol. Les résultats obtenus manquent de précision, car avec ces indicateurs les teintes présentées sont très près ou au delà

des teintes limites. L'emploi des indicateurs bicolores pour la mesure du pH de solutions de quinine est donc à éviter et nous ne présentons les résultats qu'à titre documentaire.

La détermination par voie électrométrique a été faite par la méthode d'opposition, à l'aide d'une électrode d'antimoine, étalonée par rapport à l'électrode à hydrogène.

L'eau utilisée comme solvant a été bidistillée sur baryte et sur permanganate de potassium.

Le tableau ci-dessous résume les résultats obtenus par les trois méthodes.

Solutions à 1 % de base	Méthode électromé- trique	Méthodes colorimétriques	
		Clark et Lubs	Michaëlis
Eau bidistillée.....	5,80	5,1 (rouge de mé- thyle)	5,0 (γ dinitrophé- nol)
Citrate.....	5,50	5,2 —	5,3 —
Lactate.....	6,30	5,9 —	5,3 —
Sulfate.....	6,34	6,0 (bleu de bromo- thymol)	5,4 —
Chlorhydrate.....	6,40	6,0 —	5,4 —
Quinate.....	6,43	6,0 —	5,6 (paranitrophé- nol)
Phénylbutyrate....	6,45	5,9 (rouge de mé- thyle)	5,5 —
Bromhydrate.....	6,48	6,0 (bleu de bromo- thymol)	5,5 —
Cluconate.....	6,50	6,0 —	5,6 —
Benzoate.....	6,54	6,0 —	5,6 —
Formiate.....	6,60	6,0 —	5,7 —
Phénylpropionate..	6,62	6,0 —	5,7 —
Isobutyrate.....	6,68	6,0 —	5,7 —
Phénylacétate.....	6,71	6,0 —	5,7 —
Valérienate.....	6,75	6,0 —	5,7 —

La méthode colorimétrique donne des résultats très douteux, fait classique pour les alcaloïdes. Elle permet simplement d'avoir une idée approximative de l'ordre dans lequel se placent les différentes solutions et à ce titre, les nitrophénols malgré l'erreur systématique d'une unité qu'ils présentent, peut-être par erreur d'acidité, sont les plus indiqués pour ajuster ces solutions à un pH voisin.

Celle du citrate mise à part, toutes les solutions ont un pH compris entre 6,3 et 6,8. Dans l'ensemble les solutions de sels d'acides à fonctions alcool ont un pH moins élevé que celles

d'acides à chaîne grasse. Nous étudierons plus loin les constantes de dissociation de ces sels.

FLUORESCENCE.

On sait, depuis O. OLDENBERG, que la fluorescence des sels de quinine, observée il y a plus d'un siècle par GUIBOURT, est considérablement augmentée en lumière ultra-violette. Cette fluorescence, de couleur bleue, varie avec la concentration (LARROUTUROU (166), R. FABRE (78), R. ROLLÉ (280)) avec le pH (DESHA (61), VOLMAR (330), PERROTTET (229), COLOMBIER (53)) avec la nature de l'acide (LARROUTUROU (166), PEYROT (230)) avec l'intensité des radiations excitatrices.

Il aurait été intéressant d'évaluer avec précision la fluorescence des solutions aqueuses de nos divers sels de quinine par des déterminations photométriques ou spectrophotométriques (DESHA (61), R. FABRE (78), ANDANT (6), FUCHS et KAMPITSCH (96)) si nous avions pu disposer des appareils nécessaires à ces mesures. Nous nous sommes donc contenté d'apprécier à l'œil, la teinte de fluorescence de solutions aqueuses à 1/1.000 de base anhydre des différents sels, afin de voir si cette teinte permettrait d'apporter un caractère individuel supplémentaire pour leur détermination. Il n'en a pas été ainsi. En examinant les solutions aux rayons ultra-violets, fournis par l'arc charbon-fer de la lampe REICHERT, nous n'avons pu classer les sels qu'en trois groupes :

1° Ceux qui présentent une teinte de fluorescence bleu-ciel clair :

Citrate,
Sulfate,
Lactate.

2° Ceux qui présentent une teinte de fluorescence bleu-violet :

Formiate,
Gluconate,
Chlorhydrate,
Quinate,
Benzoate,
Isobutyrate.

3° Ceux qui présentent une teinte de fluorescence violet-bleu :

Phénylbutyrate,
Phénylacétate,
Phénylpropionate,
Bromhydrate,
Valérienate.

Si nous considérons les sels dont les solutions aqueuses ont des pH très voisins à cette concentration, nous constatons que la teinte de fluorescence s'accroît vers le violet lorsque la chaîne aliphatique de l'acide s'allonge et ceci aussi bien pour les acides aromatiques que pour les autres. La présence de fonctions alcools semble au contraire la faire virer vers les teintes plus claires.

MÉTHODES DE MICRODOSAGES.

Au cours de nos recherches, nous avons été amené à doser de très faibles quantités de quinine, de l'ordre du centième de milligramme, soit dans l'eau, soit dans des liquides biologiques. Afin d'éviter des redites nous allons exposer ici les méthodes de microdosages que nous avons retenues pour leur exactitude et aussi pour la simplicité de leur exécution.

Les méthodes de microdosages de la quinine sont de trois types :

méthodes colorimétriques,
méthodes néphélométriques,
méthodes fluorométriques.

1° Méthodes colorimétriques.

La réaction de la thalléioquinine et de l'érythroquinine ont été appliquées sous des formes diverses au dosage colorimétrique de faibles quantités de quinine. La mise en œuvre de ces méthodes est délicate car la quantité de réactifs à faire agir est bien souvent conditionnée par le taux de quinine de la liqueur à doser. MONNET (207) qui a particulièrement étudié ces techniques donne la préférence à la réaction de l'érythroquinine. Il a proposé en 1933 le protocole suivant :

« 10 cc. de solution de quinine sont acidifiés par l'acide acétique, on ajoute 1 cc. de chloroforme, puis successivement goutte

à goutte, en agitant après chaque addition, les réactifs suivants :

— eau bromée saturée diluée au 1/10^e jusqu'à coloration jaune faible mais persistante ;

— solution aqueuse au 1/10^e de ferrocyanure de potassium, une goutte pour cinq gouttes d'eau bromée ajoutée ;

— ammoniacque diluée au 1/10^e jusqu'à légère alcalinité.

Après agitation énergique le chloroforme se sépare, coloré en rouge ou en rose selon la quantité de quinine contenue dans la solution ».

Même en utilisant du chloroforme très pur, exempt d'alcool, nous avons toujours obtenu, en suivant scrupuleusement ces indications, un trouble persistant du milieu chloroformique.

La méthode de SANCHEZ (285), par déméthylation et copulation avec un diazoïque n'étant pas assez sensible, nous nous sommes adressé à la technique récemment proposée par PRUDHOMME (239) et qui nous a donné toute satisfaction. C'est incontestablement la plus fidèle des méthodes de dosages colorimétriques de la quinine que nous avons expérimentées. Nous empruntons au mémoire de l'auteur les détails ci-dessous :

« La méthode est basée sur la propriété qu'a la quinine et plusieurs autres alcaloïdes, de former avec certains colorants à type acide, tels que l'éosine, colorant insoluble dans le chloroforme, des combinaisons colorées insolubles dans l'eau mais solubles dans le chloroforme.

Si à une solution à 1 % d'un sel de quinine on ajoute quelques gouttes d'éosine en solution à 2 %, il se forme un précipité rouge que l'addition d'un peu de chloroforme dissout en prenant une teinte rouge intense. Avec une solution très diluée d'un sel de quinine, le précipité n'est pas très apparent, mais par agitation, le chloroforme prend une teinte rose qui s'accroît avec le temps. L'intensité de coloration du chloroforme est proportionnelle à la quantité de quinine mise en jeu.

La coloration est encore perceptible au 1/1.000^e de milligramme d'un sel de quinine dissous dans 10 cc. d'eau.

En plus de la quinine d'autres alcaloïdes donnent naissance à cette combinaison. Citons la cinchonine, l'éphédrine, l'ésérine, la pilocarpine, l'atropine, etc. Au contraire, avec la caféine, le chloroforme reste parfaitement incolore. Le pH du milieu joue

un rôle capital. En opérant sur des solutions tampons de pH différents, pour une même quantité de quinine, la coloration du chloroforme passe par un maximum entre $\text{pH} = 6,5$ et $\text{pH} = 7,5$. Au-dessous de $\text{pH} = 2$ et au-dessus de $\text{pH} = 10$, le chloroforme reste parfaitement incolore.

On voit donc que pour faire un dosage il faut se placer au pH optimum où la coloration sera la plus intense. C'est pourquoi nous ajoutons toujours une solution tampon de $\text{pH} = 7$, ce qui nous permet de faire des lectures comparables entre elles. La solution tampon dont nous nous servons est celle de SÖRENSEN concentrée cinq fois (*). Nous en ajoutons 2 cc. à 10 cc. du milieu où se passe la réaction. Comme pour tout dosage de cette nature on doit préparer une échelle colorimétrique... Avec une solution aqueuse de quinine (sous forme de sulfate neutre) on prépare une série de tubes à essai contenant 10 cc. de solution dont la concentration va de 2 mgr. à 0 mgr. 01. Dans chaque tube on ajoute 2 cc. de la solution tampon, puis IV gouttes de solution d'éosine à 2 %. On agite. On jette 3 cc. de chloroforme. On agite encore fortement. Le chloroforme se teinte proportionnellement à la quantité de quinine.

Après 4 heures on prélève le chloroforme avec une pipette et chaque essai est introduit dans un tube à hémolyse que l'on scelle pour éviter l'évaporation du chloroforme. On a ainsi une gamme de coloration qui correspond à des quantités de sulfate neutre de quinine de 2 mgr. à 0 mgr. 01. On conserve cette échelle à l'abri de la lumière. Il est évident que l'on peut construire une échelle correspondant à des quantités de quinine plus fortes ou plus faibles. Il est à remarquer cependant que pour de fortes doses la coloration est trop intense pour pouvoir être bien évaluée et que d'autre part on ne peut guère descendre au-dessous de 0 mgr. 005 de quinine car, à cette concentration, la coloration est trop faible. On doit d'ailleurs, au-dessous de 0 mgr. 01, laisser le chloroforme en contact pendant 24 heures avec le liquide surnageant avant de le décanter.

Pour faire le dosage on opère exactement comme ci-dessus avec 10 cc. de la solution à examiner. La coloration du chloroforme est comparée à celle des étalons. Cette comparaison ne

(*) Dissoudre 13 gr. 617 de phosphate monopotassique dans 300 cc. d'eau d'une part et 41 gr. 566 de phosphate disodique (à 2 OH_2) dans 700 cc. d'eau d'autre part. On mélange ces deux solutions.

peut se faire que lorsque le chloroforme est décanté dans un autre tube car il arrive souvent qu'un peu du liquide surnageant se glisse entre le chloroforme et le tube de verre et laisse croire à une réaction positive ».

Nous avons vérifié le bien-fondé de ces observations en utilisant, pour constituer la gamme, le chlorhydrate basique de quinine. Nous avons constaté en outre, que des tubes contenant la même quantité de base quinine mais préparés avec nos différents sels, communiquaient, après réaction, exactement la même teinte au chloroforme.

Preuve nouvelle que la constitution chimique attribuée à nos sels correspond bien à la réalité.

Bien que cette méthode colorimétrique soit basée sur une réaction qui n'est pas spécifique de la quinine, elle donne des résultats qui, dans nos recherches, nous l'ont fait préférer aux autres. Elle est applicable aux milieux biologiques.

2^o Méthodes néphélométriques.

Les réactifs généraux de précipitation de l'alcaloïde peuvent être employés à condition que l'intensité du trouble soit proportionnelle à la teneur en substance et que celle-ci soit seule précipitée.

L'appréciation du trouble peut se faire par simple comparaison avec des solutions de titre connu en quinine, ou de façon plus précise avec un photomètre.

Les réactifs précipitants les plus employés sont l'acide picrique (BAUR et REVEILLET (15)), le réactif de TANRET (MAURIN (194), ACTON et KING (3), SINTON (303)), le réactif de MAYER (RAMSDEN et LIPKIN (241)) et plus récemment le réactif arsénio-molybdique (STERKIN et HELFGAT (307)).

Nous avons eu l'occasion d'utiliser, dans le cas de solutions aqueuses de sels de quinine, la réaction bien connue de précipitation par la solution iodo-iodurée que nous avons sensibilisée par l'artifice suivant :

Si à 10 cc. d'une solution aqueuse convenablement diluée d'un sel de quinine on ajoute 1 cc. d'iode N/10 on peut percevoir un léger trouble à partir de la concentration de 0 mgr. 10 pour 100 cc. Mais nous avons remarqué que si l'on expose les tubes, dont la teneur en quinine est inférieure, à une forte lumière

blanche (lampe Stiassnie pour ultra par exemple) un trouble apparaît par effet TYNDALL, trouble qui est proportionnel à la quantité de quinine mise en jeu. Il est ainsi possible de déceler 1/100 de mgr. de quinine base sous forme de sel dans 100 gr. d'eau.

Ce trouble n'est pas stable et s'accroît un peu avec le temps. Il n'a pas, d'autre part, la même intensité pour une même concentration en base des différents sels, ce qui s'explique par la solubilité variable des sels d'iodoquinine formés. Cette méthode peut cependant donner de bons résultats si l'on a soin de comparer des solutions d'un sel donné, avec une gamme préparée avec le même sel et si l'on ajoute le réactif précipitant en même temps dans le tube contenant la solution de titre inconnu et la série de tubes constituant la gamme.

Nous avons préparé ainsi extemporanément des séries de tubes dont les concentrations en base quinine différaient de 0 mgr. 05 depuis 0 mgr. 01 jusqu'à 0 mgr. 95 pour 100 gr.

Bien que la mise en œuvre de cette méthode soit assez laborieuse et que nous lui ayons préféré la technique colorimétrique de PRUD'HOMME, nous la signalons cependant, le principe de l'utilisation de l'effet TYNDALL pour doser des substances précipitées à l'état colloïdal, pouvant être intéressant dans d'autres cas. Cette méthode n'est applicable qu'aux solutions aqueuses de quinine, exemptes de toutes matières organiques.

3^o Méthodes fluorométriques.

L'intensité de la fluorescence d'une solution d'un sel de quinine exposée aux ultra-violets est proportionnelle, dans une certaine zone de concentrations, à la quantité de quinine présente dans la solution.

DENIGÈS (60) a proposé un dosage, dit fluoroscopique, basé sur la comparaison, à l'œil nu, de la fluorescence de solutions fortement sulfuriques de quinine.

D'autres méthodes plus précises ont été proposées. DESHA (61) a recommandé l'emploi d'un photomètre analogue au néphélomètre de KOBER. R. FABRE (78) a employé le spectrophotomètre de JOBIN et YVON. PEYROT (230) et M^{lle} PERROTTET (229) ont mesuré les traces de fluorescence par l'étude du facteur de dépolarisation de la lumière diffusée par les liquides. Mais ces tech-

niques récentes nécessitent l'emploi d'appareils très onéreux.

Nous avons repris la méthode de DENIGÈS, en l'adaptant au cas particulier que nous avons à étudier. Nous donnerons plus loin le détail expérimental du dosage qui entre dans le cadre d'une recherche spéciale.

PREMIÈRE PARTIE

Recherches sur quelques propriétés pharmacodynamiques des sels de quinine.

Action sur les Protozoaires.

Avant même que soient connus les Protozoaires responsables des fièvres paludéennes, les expérimentateurs avaient eu la curiosité d'étudier l'action de la quinine, médicament anti-malarique universellement employé, sur des cellules vivantes et libres.

BINZ (25) pensait en effet, dès 1868, à une action étiotrope de la quinine sur les provocateurs hypothétiques de la malaria et non pas à une action symptomatique exercée sur le système nerveux central, comme l'affirmaient certains auteurs.

C'est pourquoi il eut l'idée, bien avant la découverte de l'hématozoaire par LAVERAN, d'expérimenter la toxicité de la quinine sur des êtres monocellulaires et en particulier les Paramécies et les Colpidies des infusions de foin. Il constata ainsi, que les Paramécies sont tuées immédiatement par une concentration de 0,125 % de chlorhydrate de quinine, en plusieurs minutes avec 0,05 %, et en quelques heures avec 0,005 %. Seuls les Amibes de l'eau salée et les Spirochètes de la fièvre récurrente parviennent à vivre dans des solutions relativement concentrées (0,20 %).

Les recherches de SANTESSON (236), KRUKENBERG (153), BOKORNY (30), BUCHOLTZ (36) apportèrent confirmation de ce

faits et les étendirent aux Turbellaires, aux Algues et aux micro-organismes des infusions de tabac. GIEMSA et v. PROWAZEK (107), puis MOLDOVAN (204) étudièrent les modifications morphologiques, produites chez les Protistes par la quinine. La mort serait causée par asphyxie.

D'après ROHDE (279), l'action sur le *Plasmodium* peut être vue au microscope si l'on mêle une goutte d'une solution de chlorhydrate ou de sulfate de quinine, à une goutte de sang de paludéen. On constate que les mouvements flagellaires cessent et que le parasite ne tarde pas à mourir.

Toutefois, ZUNZ (339) rapporte qu'une concentration à 1/10.000 de quinine arrête leurs mouvements, mais ne tue pas les hématozoaires. Des sporozoïtes maintenus pendant 12 heures dans de l'eau physiologique contenant 1/5.000 de quinine conservent leur pouvoir infectant.

Selon L. LAUNOY et H. LAGODSKY (169), MORGENROTH, VASSEL, LINGARD, etc... ont étudié la toxicité de substances anti-malariques sur d'autres Protozoaires tels que les Trypanosomes du Nagana, du Surra. GIEMSA pense que ces expériences valent pour les parasites étudiés, mais qu'on ne saurait transposer aux Plasmodidés, les résultats observés chez les Trypanosomidés.

Cependant, « les techniques d'information consistant à l'application de corps chimiques, doués d'activité antimalarique, à des Protozoaires autres que les Hémosporidies, ne sont pas tombées en désuétude ». Les travaux récents de DIKSHIT (66), CASINI (42), KINDLER (144), STEINBERG (306), UPENDRANATH BRAHMACHARI (31) et ses collaborateurs, etc... ont encore utilisé les Paramécies pour comparer la toxicité de divers produits de cet ordre.

En fait, cette technique ancienne permet d'espérer la solution de problèmes généraux, s'il s'agit d'étudier les variations de toxicité d'un antimalarique déterminé sous l'influence de facteurs extérieurs. Aussi la quinine a-t-elle été encore examinée, dans ces dernières années, de ce point de vue.

En 1925, A. et A. CANTACUZÈNE (40) ont étudié la sensibilité de divers Infusoires, vis-à-vis de la quinine et de la quinoïdine, et ont trouvé que *P. caudatum* est moins sensible à ces toxiques que les Spirostomes et plus sensible que les Colpidies.

Deux années plus tard, FEILER (85) a publié le résultat de ses

recherches concernant l'action toxique de la quinine sur le même Infusoire. Parmi les changements morphologiques qui surviennent chez les Paramécies au cours de l'action de l'alcaloïde, cet auteur note principalement la vacuolisation intense du protoplasme observée auparavant par V. PROWAZEK (238).

En 1929 (86), le même auteur a étudié l'action oligodynamique de la quinine, d'après l'effet qu'elle exerce à différentes concentrations sur le taux de division des Paramécies. Cette action se produit même dans le cas de solutions très diluées ($N. 10^{-21}$) et l'on constate alors, en fonction de la dilution, des alternatives de stimulation et de ralentissement sur le taux de division des Infusoires. D'après l'auteur, ces modifications seraient dues, soit à une stimulation directe des Paramécies, soit à une augmentation du nombre des Bactéries du milieu ambiant, c'est-à-dire une augmentation de la quantité d'aliments dont se nourrissent ces Infusoires. Notons que GORBUNOWA (113) a observé que la sensibilité des Infusoires à la quinine augmente et diminue plusieurs fois pendant l'intervalle entre deux divisions, et que ROSKIN (282) a signalé que la force d'action de la quinine sur les Paramécies dépend du stade du cycle biologique.

ROSKIN et DUNE (283) ont constaté que le protoplasme de *P. caudatum* possède la faculté de fixer énergiquement les particules électronégatives comme l'oxyde de fer et que ces particules, qui n'exercent aucune action directe sur l'animal, modifient cependant son comportement vis-à-vis de la quinine, en le rendant plus sensible à l'action de cet alcaloïde ; ces modifications seraient, semble-t-il, liées à la charge des particules.

WARASI (331) a montré que les Paramécies étaient plus sensibles à l'action de la quinine que les autres Protozoaires ; chez les espèces parasites, les hématozoaires résistent moins bien à l'action du toxique que les Trypanosomes.

En 1933, GAUSE (102) a étudié la relation entre la concentration des solutions de quinine utilisées et la durée moyenne de la vie des Paramécies en expérience. Il a constaté que la toxicité est relativement moins élevée pour les fortes concentrations que pour les concentrations plus faibles.

Récemment SARASI LAL SARKAR (288) a observé que la sensibilité des Paramécies à la quinine peut être accrue chez des Infusoires soumis pendant un certain temps à l'action d'une

solution de quinine relativement diluée. Des faits semblables ont été relatés par ROLLÉ (280) dans le cas des Amibes.

INFLUENCE DU PH.

POUR V. PROWAZEK (238), HENRY (T.-A.) et BROWN (H. C.) (122), MARIAN M. CRANE (56), MAYEDA (195), G. ANSCHÜTZ (7), H. W. ACTON (2) entre autres, la toxicité de la quinine vis-à-vis des Protozoaires est plus élevée en milieu alcalin qu'en milieu acide.

MARIAN M. CRANE (56) pense que la base libre non dissociée est responsable de la toxicité de la quinine et que l'action des ions H^+ s'exerce plus sur la drogue que sur la cellule.

ROSKIN et DUNE (283) ont pourtant constaté que *P. caudatum* présentait une sensibilité accrue en milieu acide quand il était « bloqué » par des particules d'oxyde de fer colloïdal, mais il s'agit là d'un cas un peu spécial et ROLLÉ (280) a confirmé, sur *Amœba dubia*, que la toxicité de la quinine est plus grande en milieu alcalin.

INFLUENCE DES RAYONS ULTRA-VIOLETS.

Un certain nombre d'auteurs ont étudié l'action de l'irradiation ultra-violette sur la toxicité de la quinine.

ROSKIN et ROMANOVA (284) ont signalé une augmentation très nette de la toxicité de la quinine pour les Infusoires en présence des rayons ultra-violets. Ces résultats contestés par JIROVEC et BOUSE (132) ont été confirmés par ALPATOW et NASTJUKOWA (5).

Pourtant MILANESI (203) n'a pas observé de modification de la toxicité de différents sels de quinine pour les Paramécies sous l'influence de l'irradiation ultra-violette. Mais il a observé que le bisulfate de quinine, le seul sel fluorescent selon lui, à la lumière solaire, est bien plus toxique que le chlorhydrate.

FIXATION DE LA QUININE SUR LES CELLULES.

De quelle manière l'alcaloïde se fixe-t-il sur l'être monocellulaire ?

Les travaux de G. VALETTE et de son élève ROLLÉ ont apporté une contribution importante à cette question.

En 1935, G. VALETTE (323) a étudié les modalités de fixation de la quinine chez les Protozoaires par l'examen microscopique de la fluorescence obtenue au moyen de solutions sulfuriques de cet alcaloïde.

En observant à l'aide du microscope à fluorescence de Reichert des Paramécies (*P. caudatum*) placées entre lame et lamelle dans une solution de sulfate de quinine, il constata au bout d'un temps très court, l'apparition de plages lumineuses circulant à l'intérieur du Protozoaire et augmentant d'intensité jusqu'à se détacher en bleu intense sur le fond obscur de la préparation. Or, ces sphères lumineuses n'étant autres que les vacuoles digestives, l'auteur conclut à une fixation élective de la quinine sur le vacuome, où se produit une condensation de l'alcaloïde ; il put alors comparer ce phénomène avec celui qui a lieu dans le cas de la fixation du rouge neutre sur la cellule du Protozoaire, la substance étrangère se localisant dans les deux cas au niveau des mêmes inclusions protoplasmiques.

Avec ROLLÉ, G. VALETTE (324) a repris la même étude sur *Amœba dubia*. Là encore, la quinine se fixe au niveau du vacuome, mais aussi au niveau de certaines inclusions protoplasmiques autres que les vacuoles.

Ces observations sont à rapprocher de celles de JANCZO (130) effectuées sur les Trypanosomes avec certains dérivés de l'acridine.

En outre, la pénétration de la quinine dans le protoplasme d'*Amœba dubia*, et l'action toxique de cet alcaloïde sont influencées de manières diverses par les substances douées d'une action cytolytique (280). Tandis que la saponine et le ricinoléate de sodium retardent la pénétration de l'alcaloïde et par suite l'intoxication des Amibes, le cholate de sodium accélère cette pénétration au sein du Protozoaire et augmente l'action toxique. La lécithine et le sérum sanguin exercent également une action antitoxique vis-à-vis de la quinine, par suite du retard qu'ils apportent à la pénétration de l'alcaloïde à l'intérieur de l'Amibe. Ces observations s'accordent avec les expériences déjà anciennes de BUSCK (38) et de MOLDOVAN (204).

Enfin, tout récemment, BOCK et ŒSTERLIN (29) ont expérimenté *in vivo* avec l'atébrine et la quinine sur *Plasmodium inui*

et *P. Knowlesi* chez *Macacus rhesus*. L'examen des hématozoaires, au microscope à fluorescence, a montré que la quinine devient visible à l'intérieur du parasite, 3 heures après l'injection intramusculaire. Cette observation est une preuve nouvelle, pour les auteurs, que l'alcaloïde attaque directement le parasite.

En résumé, la quinine est un poison très actif pour les Protozoaires dont la sensibilité est variable et est influencée par de nombreux facteurs (état de division, pH, rayons ultra-violets...). Ils sont tous attaqués directement, même *in vivo*, par l'alcaloïde qui pénètre dans le vacuome.

Nous avons, à notre tour, repris la question de la toxicité de la quinine pour les Protozoaires, afin de voir si celle-ci est influencée par l'acide qui salifie l'alcaloïde. Nous nous sommes adressé pour cela à un Cilié et à un Rhizopode.

Nous allons présenter en premier lieu les recherches que nous avons effectuées sur un Infusoire cilié : *Glaucoma scintillans*-Ehrenberg, en second lieu les résultats que nous avons obtenus sur un Amibien, *Entamoeba invadens*. Rodhain.

A) Action des sels de quinine sur *Glaucoma scintillans*. EHRENBURG.

Nous avons isolé cet Infusoire à partir d'une macération de cresson, en prélevant, à l'aide d'un micro-compte-goutte, quelques individus isolés que nous avonsensemencés, avec les Bactéries entraînées, sur infusion de foin stérile (*). Nous n'insisterons pas sur la morphologie de ce Cilié, que l'on trouvera décrit et figuré dans le manuel classique de W. S. KENT (142). Pour expérimenter ces Infusoires dans leur milieu naturel, nous avons, à l'aide de notre souche, ensemencé une conserve d'eau de robinet, au sein de laquelle était suspendu un nouet de gaze contenant du cresson et quelques grains de blé écrasés, selon les indications de KOPACZEWSKI (155).

Au bout de quelques jours, on obtenait une suspension de Protozoaires qui contenait après agitation, principalement dans l'eau sortant du nouet, 10 à 20 Ciliés par goutte, appartenant

(*) Nous remercions M. le Professeur FAURÉ-FRÉMIET qui a bien voulu déterminer l'espèce que nous avons isolée.

en presque totalité à l'espèce considérée. On réenseménait tous les cinq jours dans une conserve identique.

En examinant au microscope à l'oculaire 3 et à l'objectif 2 (grossissement total = 70) une goutte de cette suspension additionnée d'une goutte de solution de chlorhydrate basique de quinine à 1 ‰ de base, on constate que les mouvements rapides de translation des *Glaucoma* sont immédiatement ralentis. Puis ceux-ci ne tardent pas à tourner en rond et à changer de forme. Ils se gonflent peu à peu jusqu'à devenir sphériques. Des boules sarcodiques au nombre de 1 à 4 apparaissent bientôt sur le corps du Protozoaire qui tourne alors sur lui-même d'un mouvement de plus en plus lent. Enfin tout mouvement cesse, les membranelles s'arrêtent les dernières et souvent le corps du Protozoaire éclate.

De tous les stades de cette intoxication, le plus significatif nous a paru être l'arrêt du mouvement rotatoire du Protozoaire devenu globuleux.

Ce stade apparaît plus ou moins vite selon les animaux dont la résistance individuelle est variable. En particulier les Infusoires en cours de division nous ont semblé plus résistants, ce qui s'accorde avec certaines données de la littérature.

Le protocole expérimental que nous avons finalement adopté après d'autres essais (examen en goutte pendante, perfusion entre lame et lamelle, etc...) a été le suivant :

Dans une série de tubes à hémolyse on introduit 2 cc. de solutions de sels de quinine de concentration croissante. Puis 2 cc. de suspension de Protozoaires. On mêle, et à des temps fixés, on prélève à l'aide d'un tube effilé, une goutte du mélange que l'on dépose sur une lame propre. On examine aussitôt.

Il ne faut pas, le mélange effectué, prélever une goutte et suivre les phases d'intoxication sous le microscope en fonction du temps. Il faut, à chaque temps fixé, prélever une goutte du mélange et l'examiner rapidement. Dans le premier cas en effet, l'intoxication est beaucoup plus rapide, probablement à cause de l'évaporation du véhicule qui, augmentant la concentration en alcaloïde, rend le milieu de plus en plus toxique.

Tenant compte des variations individuelles, nous avons convenu de procéder par exclusion. Dans une goutte contenant de 5 à 10 Protozoaires, nous avons noté : + toute goutte contenant au moins un *Glaucoma* capable de mouvements de translation

parmi d'autres dont le stade d'intoxication est plus avancé.

Nous avons noté : $\pm$ toute goutte contenant au moins un Protozoaire globuleux, tournoyant encore sur lui-même comme une roue, parmi d'autres déjà tués ou éclatés.

Nous avons noté : — toute goutte pour laquelle tous les Protozoaires sont immobiles.

1° Influence de la concentration sur la toxicité du chlorhydrate basique de quinine.

Nous avons étudié l'influence de la concentration dans une zone comprise entre 0,10 % et 0,01 % en base anhydre (concentration finale après mélange avec la suspension d'Infusoires).

Les chiffres ci-dessous montrent que la toxicité croît, en fonction du temps, avec la concentration et que le processus suit une loi hyperbolique de la forme : $C = a + \frac{b}{t}$ où l'on peut donner aux paramètres a et b les valeurs approximatives suivantes : $a = 0,01$ et $b = 0,7$.

Concentration % en base quinine	Temps en minutes pour obtenir le stade léthal	
	observé	calculé
0,10	7	8
0,08	11	10
0,06	14	14
0,05	19	18
0,04	28	23
0,03	38	35
0,02	75	70
0,01	> 12 heures	∞

VALETTE et ROLLÉ (324) ont également trouvé sur *Amœba dubia* une relation de forme hyperbolique.

2° Influence de la température.

La vitesse d'intoxication des Protozoaires est très influencée par les variations de température.

L'expérience suivante est très démonstrative à cet égard. Le tableau a trait aux résultats obtenus après 30 minutes d'action de l'alcaloïde sous forme de chlorhydrate.

La toxicité croît avec la température.

Température	Concentration en base %				
	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05
5°	+	+	+	±	—
14°	+	+	+	—	—
37°	±	—	—	—	—

3° Influence du pH.

Après avoir vérifié, en ajustant la suspension de Protozoaires avec de la soude ou de l'acide chlorhydrique, que les Glaucoma vivent plus de 2 heures entre pH = 4,0 et pH = 8,4 (ils sont fixés à pH = 2,0, immédiatement, sans éclatement), nous avons étudié la toxicité d'une solution de chlorhydrate à 0,04 % en base, en fonction de la concentration en ions H⁺, de façon que les pH du milieu (après mélange à parties égales avec la suspension d'Infusoires, ce qui donne une concentration en quinine de 0,02 %) soient ceux indiqués dans l'expérience ci-dessous, effectuée à 15°.

	Durée de mobilité des protozoaires
pH = 8,4	16 minutes
pH = 7,2	45 minutes
pH = 6,6	75 minutes
pH = 6,0	supérieure à 2 heures
pH = 5,0	supérieure à 2 heures

L'influence du pH est donc très nette et se manifeste par une élévation de la toxicité avec la diminution des ions H⁺, ce qui s'accorde avec les principales données bibliographiques que nous avons exposées.

4° Influence de l'acide qui salifie l'alcaloïde.

Pour étudier l'action toxique de nos différents sels de quinine dans les mêmes conditions, principalement de température (14° et sur la même suspension de Protozoaires, nous les avons tous expérimentés en même temps, en les faisant agir à des concentrations croissantes pendant 30 minutes.

Pour chaque sel, on a préparé une série de 5 tubes de la manière suivante :

Tubes	Eau distillée	Solution du sel de quinine à 0,10 % en base	Suspension de protozoaires	Concentration en base %
1	1,6 cc.	0,4 cc.	2 cc.	0,01
2	1,2	0,8	2	0,02
3	0,8	1,2	2	0,03
4	0,4	1,6	2	0,04
5	0	2	2	0,05

Les dilutions des sels de quinine étant prêtes, on ajoutait la suspension d'Infusoires à une série de tubes de 5 en 5 minutes. Les mêmes tubes étaient étudiés 30 minutes après, de 5 en 5 minutes.

Le tableau ci-dessous donne les résultats obtenus dans une expérience typique. Les sels y sont classés de haut en bas par ordre d'activité croissante :

Sels	Concentration en base %				
	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05
Citrate.....	+	+	+	+	±
Quinate.....	+	+	+	±	—
Lactate.....	+	+	+	±	—
Sulfate.....	+	+	+	±	—
Gluconate.....	+	+	+	—	—
Bromhydrate.....	+	+	+	—	—
Valérianate.....	+	+	+	—	—
Chlorhydrate.....	+	+	+	—	—
Benzoate.....	+	+	±	—	—
Formiate.....	+	+	—	—	—
Isobutyrate.....	+	+	—	—	—
Phénylacétate.....	+	+	—	—	—
Phénylpropionate....	+	+	—	—	—
Phénylbutyrate.....	+	+	—	—	—

Nous retrouvons donc, du point de vue de l'activité pharmacodynamique de la quinine, les trois groupes de sels mis en évidence pour la première fois par les travaux de J. RÉGNIER sur les anesthésiques locaux : sels du type citrate, sels du type chlo-

hydrate, sels du type phénylpropionate. Il y a pourtant une exception dans ce cas. Celle du gluconate, qui est ici, d'activité égale au chlorhydrate et celle du valérianate que l'on devrait trouver dans la série « favorable ».

Mais ces différences d'activité, c'est une objection que l'on peut faire, peuvent être dues aux différences de pH des solutions des divers sels. Nous avons donc ajusté des solutions à 0,10 % en base par addition ménagée des acides correspondants dont nous disposions, de façon que le pH final, après mélange avec la suspension de Protozoaires, soit pour tous les sels, égal à pH = 6,0.

L'expérience ci-dessous, effectuée à 13° montre les faits observés. La concentration finale en base quinine est de 0,05 %.

Sels	pH	Durée de mobilité des protozoaires
Phénylacétate.....	6,0	25 minutes
Phénylpropionate.....	6,0	35 —
Isobutyrate.....	6,0	35 —
Phénylbutyrate.....	6,0	45 —
Chlorhydrate.....	6,0	55 —
Quinate.....	6,0	65 —
Citrate.....	6,0	160 —
Gluconate.....	6,0	230 —

Les différences sont encore plus nettes et les trois groupes de sels encore mieux mis en évidence.

Toutefois, il faut rappeler que J. RÉGNIER et R. DAVID (251) ont montré que l'addition des acides de la série dite « favorable » pour ajuster les solutions salines à un pH déterminé, a pour effet d'abaisser la tension superficielle des solutions. Or, on sait que l'abaissement de la tension superficielle, nous l'étudierons plus loin, augmente généralement l'activité médicamenteuse.

Il vaut mieux, à notre sens, dans une étude comme celle-ci, ne pas introduire ce facteur de variation supplémentaire pour se mettre à l'abri d'un phénomène connu et dont on peut suivre les modalités.

C'est pourquoi dans les expériences qui suivront, nous nous garderons bien d'ajuster des solutions dont les pH ne diffèrent d'ailleurs pas beaucoup, nous réservant de discuter l'influence

de ce facteur et par suite celle de l'ionisation plus ou moins grande du sel, ou de son hydrolyse, après en avoir fait l'étude systématique.

B) *Action des sels de quinine*
sur *Entamæba invadens*. RODHAIN.

Si l'expérience avec les Ciliés, donne de très utiles indications sur la toxicité des substances médicamenteuses à l'égard des Protozoaires, elle ne permet pas de considérer les phénomènes toxiques comme la résultante d'un simple processus de perméabilité à travers une membrane vivante, puisque ces êtres sont munis d'un cytostome et d'un cytopharynx au fond duquel les particules ingérées viennent au contact de l'entoplasme (M. PRENANT (234)). C'est pourquoi nous avons songé à étudier l'activité de nos sels de quinine sur un Protozoaire dont la membrane limitante ne comporte pas de solution de continuité. Nous nous sommes adressé pour cela à un Amibien, *Entamæba invadens*. RODHAIN (*).

Cette Amibe, qui a été étudiée et décrite par RODHAIN (277) en 1934, est pathogène pour certains Reptiles chez lesquels elle provoque une dysenterie avec lésions du gros intestin, et une véritable septicémie. E. BRUMPT (34) a pu reproduire expérimentalement cette infection chez la Vipère et a songé à l'utiliser comme moyen de destruction de ces Reptiles.

A l'examen direct, cette Amibe montre, d'après RODHAIN, un endoplasme bordé par une zone relativement étroite d'ectoplasme. En mouvement, elle pousse des pseudopodes lobés lents. L'endoplasme contient le plus souvent des Bactéries, parfois des grains arrondis et de petites masses irrégulières très réfringentes.

Le noyau arrondi est visible, montrant à la périphérie un cercle de fines granulations réfringentes. Le caryosome n'est pas distinct.

Dans les formes en voie d'enkystement, on peut fréquemment distinguer, grâce à leur réfringence, à côté d'une production

(*) Nous remercions M. le Professeur E. BRUMPT qui a bien voulu nous communiquer une souche de cette amibe et nous donner ses conseils autorisés pour sa culture.

vacuolaire oblongue, de petites masses allongées en nombre variable. Les kystes ont quatre noyaux.

Dans les cultures, sur milieu de BOECK ou au sérum de MOUTON, avec ou sans addition d'amidon de riz, les Amibes se développent le mieux à la température de 23° à 25°. Dans ces cultures les formes végétatives deviennent notablement plus mobiles que chez l'hôte naturel, et il n'est pas rare d'en observer avec un mouvement du type *limax*. La distinction entre l'endo et l'ectoplasme s'atténue, le noyau reste visible, la couronne de fines granulations réfringentes qui le borde est nettement distincte alors que le caryosome est inapparent.

En somme, les caractères morphologiques de cette Amibe, la rapprochent d'*Entamæba dysenteriae*. Elle s'en distingue par l'aspect du caryosome dans les préparations fixées au BOUIN et l'extrême délicatesse de la chromatine périphérique.

De plus, elle se multiplie à la température du laboratoire, ce qui facilite beaucoup son étude et permet de l'utiliser aisément comme test pharmacodynamique ; les formes végétatives peuvent même conserver leur mobilité pendant quatre jours à la glacière.

Nous avons cultivé *Entamæba invadens* sur sérum de cheval coagulé, en présence de Ringer-ovomucoïde et d'amidon de riz comme aliment figuré. Les souches étaient repiquées deux fois par semaine et conservées à une température de 20°-25°.

Pour préparer le milieu de culture on procède de la façon suivante :

A un litre de liquide de Ringer de formule :

ClNa	6,50 gr.
ClK	0,14 gr.
Cl ₂ Ca	0,12 gr.
CO ₃ NaH	0,20 gr.
PO ₄ Na ₂ H	0,01 gr.
Eau distillée q. s. p.	1.000 cc.

contenant quelques billes de verre et stérilisé à 105°-110°, 1/4 d'heure, on ajoute un blanc d'œuf en prenant les précautions suivantes : L'œuf, aussi frais que possible, est lavé soigneusement au savon, rincé à l'eau distillée, puis à l'alcool à 90°. On le laisse sécher, puis on le casse sur une lame flambée et on verse le blanc dans le Ringer. On agite et conserve à la glacière après avoir réparti aseptiquement en Erlenmeyers stériles de 250 cc. contenant des billes de verre.

Le milieu est préparé extemporanément au moment d'ensemencer. Pour cela on verse aseptiquement, à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, environ 4 cc. de Ringer-ovomucoïde dans un tube de sérum coagulé. Ainsi le liquide recouvre environ les $\frac{3}{4}$ du plan incliné de sérum. On ajoute à l'aide d'une lame flambée une petite pincée d'amidon de riz stérilisé 3 jours de suite, 1/2 heure à 130°, au four Pasteur.

On ensemence largement en prélevant à l'aide d'une pipette Pasteur, dans le tube de culture convenablement agité, 1 cc. de liquide que l'on verse aseptiquement dans le tube stérile ainsi préparé. Les précautions d'asepsie prises dans ses manipulations permettent de ne pas contaminer la culture avec d'autres micro-organismes (Bactéries) que ceux dont se nourrit en partie l'Amibe et que l'on entraîne avec elle.

L'Amibe vivant dans un milieu riche en sels, en albumines et en éléments figurés susceptibles de déplacer ou de fixer les sels de quinine, nous avons essayé de l'examiner dans un milieu moins chargé en ces divers éléments. Pour cela, au moment d'une expérience, tout le contenu liquide d'un tube de culture était versé dans un tube à centrifuger et centrifugé lentement à la main, pendant deux minutes. Le liquide, surnageant le léger culot de Protozoaires, était décanté et remplacé par de l'eau glucosée à 50 ‰. L'opération était recommencée deux fois et le culot remis en suspension avec précaution.

Nous avons constaté que les Amibes, examinées à l'oculaire 9 et à l'objectif 4 (grossissement=167), conservent ainsi leur vitalité (mobilité et mouvements protoplasmiques) pendant plusieurs heures.

1° *Influence du pH.*

Avant d'expérimenter avec les sels de quinine, nous avons cherché quelle était l'influence du pH du milieu sur les Amibes ainsi traitées.

Pour cela, nous avons déterminé combien de gouttes d'acide chlorhydrique ou de soude, il faut ajouter à 2 cc. de suspension d'Amibes, contenant l'indicateur convenable (échelle de Michaëlis) pour arriver au pH désiré. Sur 2 cc. de suspension d'Amibes, sans indicateur, on ajoutait alors la quantité de soude ou d'acide chlorhydrique trouvée dans l'opération précédente. On examinait de temps à autre une goutte de ce mélange.

Nous avons ainsi constaté une influence nettement défavorable des pH acides puisque entre $\text{pH} = 3$ et $\text{pH} = 5,6$ les Amibes ne vivaient pas plus d'une demi-heure à une heure. Entre $\text{pH} = 5,6$ et $\text{pH} = 8,8$ elles vivent au moins 5 heures.

2° *Action du chlorhydrate de quinine. Influence de la température et du pH.*

Sous l'action du chlorhydrate de quinine à 0,20 % en base, en solution dans l'eau glucosée à 50 ‰, les Amibes ne tardent pas à perdre leur mobilité. L'émission des pseudopodes cesse. L'animal prend alors une forme sphérique. Les mouvements protoplasmiques internes, bien mis en évidence par la mobilité des grains d'amidon enclavés, ne tardent pas à cesser et l'Amibe se fixe dans une immobilité complète, montrant parfois quelques boules sarcodiques au nombre de 3 à 4. C'est le *stade léthal* que nous avons pris comme test d'intoxication.

Avec une solution plus concentrée on peut observer l'éclatement de la cellule. On voit donc que le processus toxique s'apparente beaucoup à celui que nous avons observé sur les Glaucoma.

Nous avons constaté là encore une nette influence de la température, toujours dans le sens d'une augmentation d'activité avec l'accroissement de la température (dans les limites physiologiques) puisque, pour certaines expériences effectuées à 20°, nous avons obtenu le *stade léthal* avec une solution de chlorhydrate de quinine à 0,20 % en base, au bout de 15 à 20 minutes, alors que pour d'autres essais, effectués à 16°, il a fallu de 30 à 40 minutes pour obtenir l'immobilité complète des Amibes. Ce phénomène est peut-être à rapprocher des modifications de la viscosité du cytoplasme des Protozoaires sous l'influence de la température.

Pour observer l'influence du pH, nous avons procédé par une méthode analogue à celle utilisée avec les Infusoires. Par un essai à blanc nous avons cherché combien de gouttes de soude ou d'acide chlorhydrique il faut ajouter à 2 cc. de suspension d'Amibes dans une solution de chlorhydrate de quinine à 0,20 % en base, dans l'eau glucosée à 50 ‰, et en présence du colorant convenable, pour obtenir les pH désirés.

Dans une série de tubes contenant 2 cc. de suspension en pré-

sence de quinine sans colorant, on a ajouté les quantités d'acide chlorhydrique ou de soude trouvées dans l'opération précédente. Les temps trouvés pour obtenir le *stade léthal* dans ces conditions ont été les suivants, dans une expérience effectuée à 16°.

pH	Stade léthal en
5,6	80 minutes
6	65 —
6,4	50 —
7	45 —

A pH supérieur à 7 il y a, pour cette concentration, précipitation de la quinine base.

Comme pour les Infusoires, l'action de la quinine croît avec le pH. Nous constatons en outre, que dans les conditions de nos essais, les Amibes sont plus résistantes à la quinine que les Glaucoma.

3° Influence de l'acide qui salifie la quinine.

Nous avons préparé les solutions de nos sels de quinine en eau glucosée à 50 ‰ aux concentrations en base suivantes : 0,10 %, 0,20 %, 0,40 %, ces deux dernières concentrations étant obtenues avec les sels suffisamment solubles (les pH sont les mêmes qu'en eau distillée).

Pour l'observation, une goutte de suspension d'Amibes (contenant une dizaine de Protozoaires) était placée sur une lame à l'aide d'une pipette Pasteur. Une goutte de solution du sel de quinine était alors ajoutée avec la pipette correspondante (pour avoir sensiblement le même volume). On recouvrait d'une lamelle que l'on lutait au lut de RONDEAU DU NOYER. On notait le temps nécessaire pour obtenir le *stade léthal* chez toutes les Amibes du mélange, la concentration finale en quinine, étant, pour tous les sels, moitié moindre de celle de la solution employée.

Nous présentons dans le tableau ci-dessous, les résultats moyens obtenus avec trois cultures d'Amibes de même âge (3 jours) à la même température : 20°. Il importe, en effet, pour des essais comparatifs, d'utiliser des animaux d'une même souche, la résistance à l'alcaloïde pouvant varier avec les cul-

tures. Les chiffres expriment les temps en minutes pour obtenir le *stade léthal*.

Concentration en base %	0,05	0,10	0,20
Sulfate.....	270		
Citrate.....	170		
Lactate.....	140	30	19
Quinate.....	135	45	20
Gluconate.....	125	32	21
Chlorhydrate.....	125	30	17
Bromhydrate.....	120	28	17
Valérianate.....	120	25	16
Formiate.....	115	45	10
Isobutyrate.....	95	25	4
Phénylbutyrate.....	65		
Benzoate.....	45		
Phénylacétate.....	38		
Phénylpropionate.....	35		

Les différences constatées dans l'ordre des sels, suivant les concentrations, trouvent leur explication dans les erreurs d'expérience qui peuvent provenir du mélange plus ou moins bon des deux gouttes mises en présence (suspension d'Amibes et solution alcaloïdique) et de la difficulté qu'il y a de bien saisir le moment exact de l'apparition d'un phénomène qui n'est pas brutal.

Dans l'ensemble, nous voyons là encore que les courbes concentration-action que l'on peut tracer à l'aide de ces chiffres sont de forme hyperbolique, et que l'activité des sels s'ordonne sensiblement selon la même série que celle trouvée avec les Glaucoma, à savoir : action plus intense des sels à acides porteurs d'un noyau aromatique ou d'une chaîne grasse, activité moyenne des chlorhydrate et bromhydrate, action plus faible du sulfate et des sels à acides porteurs de fonctions alcools.

Cette fois, nous pouvons attribuer ces différences, avec raison, à la perméation plus ou moins facile des sels mis en cause. Les sels de la série « favorable » permettent, selon la théorie de J. RÉGNIER, une pénétration plus rapide au travers la couche limitante, ceux de la série « défavorable » une pénétration plus lente qui retarde d'autant les processus d'intoxication du protoplasma cellulaire.

Ajoutons que dans des expériences poursuivies sous la direc-

tion de J. RÉGNIER et en collaboration avec A. JEAN-BAPTISTE (271), effectuées en vue d'étudier l'influence de l'acide qui salifie l'émétine sur la toxicité de cet alcaloïde pour quelques Protistes, nous avons obtenu des résultats tout à fait parallèles et peut-être encore plus significatifs.

Nos recherches sur les Protozoaires nous amènent donc à une conclusion nette. Que l'on s'adresse à un Rhizopode ou à un Infusoire cilié, la toxicité de la quinine est influencée par l'acide qui la salifie et ceci dans le sens que J. RÉGNIER a mis en évidence pour la première fois avec l'activité anesthésique locale de la cocaïne.

Fixation de la quinine sur les hématies, *in vitro*.

Extraction de l'alcaloïde par voie chimique
et par voie physique (Electrodialyse).

D'après P. MATTEI (193), G. GAGLIO aurait fait, dès 1902, les constatations suivantes : En injectant du chlorhydrate de quinine par voie intraveineuse à un chien, on observe, au bout d'un certain temps, qu'il est impossible de mettre l'alcaloïde en évidence dans le sérum alors qu'on a une preuve certaine de sa présence dans le caillot ou dans les hématies. De même, en mélangeant directement un sel de quinine à du sang défibriné et en séparant les globules rouges par centrifugation, on peut en retrouver une quantité plus grande dans les hématies que dans le sérum.

Mais en 1907 des recherches de GIEMSA et SCHAUMANN (108) ne confirmèrent pas ces observations. C'est pourquoi BALDONI (12) reprit systématiquement ces essais et trouva, chez le Chien, une fixation élective de la quinine sur les hématies. Cette conclusion fut celle de RONA et BLOCH (281), malgré HARTMANN et ZILA (119), W. RAMSDEN et ses collaborateurs (241), I. J. LIPKIN (175), qui affirmaient que la teneur du plasma en quinine était plus élevée que celle des globules rouges.

R. FABRE (79) reprit la question et montra en 1926 par des recherches effectuées sur le Chien et en utilisant, pour doser la quinine, sa technique spectrophotométrique dans l'ultra-violet, que le rapport érythroplasmatique est d'environ 2,77 *in vitro* et 1,75 *in vivo*. Ces observations étaient bientôt confirmées sur le sang humain par PANTSCHENKOW et KIRSTNER (228). BINET et FABRE (23) s'attachant à nouveau à ce problème, injectèrent dans la saphène d'un chien de 14 kgr., 0 gr. 80 de chlorhydrate de

quinine sous forme de solution de quinine-uréthane. Le sang prélevé par ponction cardiaque 1 h., 48 h., 96 h., après l'injection fut additionné aussitôt de citrate de soude et on sépara les hématies du plasma par centrifugation. L'alcaloïde fut extrait par la méthode de STAS-OTTO modifiée par OGIER. Les résidus alcooliques étant repris par 1 cc. SO_4H_2 1/50^e, on dosa les solutions sulfuriques exposées aux rayons U. V. (3.650 U. A.) par spectrophotométrie.

Les résultats suivants ont été obtenus :

Moment du prélèvement après l'injection	Hématies		Plasma	
	Volume	Quinine décelée	Volume	Quinine décelée
1 heure	24 cc.	1/10 mgr.	24 cc.	1/25 mgr.
48 heures	22 cc.	1/40 mgr.	24 cc.	1/500 mgr.
96 heures	20 cc.	1/500 mgr.	25 cc.	1/500 mgr.

Ces recherches mettent bien en évidence que la quinine injectée dans l'organisme se fixe sur les hématies d'où elle n'est éliminée que lentement, et ceci explique, comme l'ont observé les mêmes auteurs (24), que le sang splénique, qui est deux fois plus riche en globules rouges que le sang circulant, peut contenir un taux de quinine presque double.

FOURMENT et HERMANN (89) ont cru devoir objecter aux expériences de BINET et FABRE que la quinine fixée sur les hématies pouvait l'être par un simple phénomène d'adsorption. En utilisant la méthode de collodionnage des éléments anatomiques dissociés de BARJON et REGAUD (14), ils ont pu mettre en évidence la présence de la quinine dans le stroma globulaire lui-même.

P. MATTEI (193) a formulé une autre objection. Pour lui, c'est l'addition d'uréthane à la solution injectée qui favorise la fixation de l'alcaloïde sur l'hématie et il le prouve en expérimentant *in vitro* sur le sang de bœuf. Il trouve un partage de la quinine à peu près égal, et plutôt en faveur du sérum, pour le sang traité par le chlorhydrate basique de quinine. Mais il constate que pour le sang traité par du chlorhydrate basique de quinine additionné d'uréthane, l'alcaloïde se fixe électivement sur les hématies. C'est donc l'uréthane qui, en mordant le globule rouge, permet à la quinine de s'y fixer.

Pourtant ROLLÉ (280) a observé une diminution de la teneur en quinine d'une solution de sulfate mise en présence d'hématies, et ceci, en l'absence d'uréthane.

Enfin, les recherches récentes de SEAGLIONI (298) montreraient que les hématies et les leucocytes n'absorbent que de faibles quantités de quinine, alors que les colloïdes extraglobulaires du sang en absorbent une forte quantité. D'après F. J. KAISER (138), il y aurait là une question de concentration, la répartition de la quinine étant plus grande sur les hématies à partir de 200 γ par centimètre cube.

Nous avons repris ces recherches *in vitro* afin de voir si cette fixation élective de l'alcaloïde observée par la plupart des auteurs était influencée par l'acide qui le salifie. La question de la fixation sur l'hématie déjà si importante pour l'ensemble des médicaments et qui a fait l'objet de nombreux travaux (en particulier ceux de FABRE (80), BURSTEIN (37), LEUZE (173), NICLOUX (218), KOPPANYI (156), SCHÖNHEYDER (295), CLICHE (50), R. VAVRA et J. KIDERY (326) ...) prend en effet un intérêt exceptionnel dans le cas de drogues qui, comme la quinine, s'attaquent à des hématozoaires. (Récemment encore, C. LATASTE, FARINAND et NGUYEN van LIEN (167) ont étudié la répartition érythroplasmatique de la quinacrine).

Nous nous sommes adressé au sang de Porc, que nous pouvions nous procurer en grande quantité, recueillir à l'abattoir à la gorge de l'animal, et défibriner immédiatement. Nous ne pouvions en effet rendre le sang incoagulable par addition de citrate de soude ou de tout autre sel précipitant le calcium, la présence de l'acide du sel alcalin employé étant susceptible de modifier quantitativement la fixation de l'alcaloïde, soit en déplaçant l'acide du sel de quinine, soit en modifiant la perméabilité de l'hématie.

Dans une première série de recherches, nous avons extrait la quinine par la méthode de STAS-OTTO en tenant compte des modifications apportées par CHÉRAMY et LOBO (45), mais malgré les précautions prises et l'excellence de la méthode employée, les rendements obtenus n'ont pas dépassé 75 % de la quantité d'alcaloïde introduite, c'est pourquoi, dans une seconde série de recherches, nous avons mis au point une technique d'extraction de la quinine par électrodialyse dont les rendements se sont montrés bien supérieurs, confirmant ainsi les résultats obtenus par

R. FABRE et P. OFICJALSKI (82) avec la poudre de quinquina rouge.

Dans un premier temps, nous exposerons donc la méthode d'extraction par voie chimique que nous avons utilisée et les résultats obtenus avec trois sels de quinine (chlorhydrate, isobutyrate et quinate), dans un second temps, nous décrirons la méthode d'extraction par voie physique élaborée, après bien des tâtonnements, et les résultats obtenus avec les mêmes sels de quinine.

PRÉLÈVEMENT ET TRAITEMENT DU SANG PAR L'ALCALOÏDE.

Dans les deux cas le prélèvement du sang et son traitement par le sel d'alcaloïde obéissent aux directives suivantes :

Une quantité suffisante de sang est recueillie à l'abattage, à la gorge d'un porc. Une partie est mise à coaguler à la glacière et permettra d'obtenir, après centrifugation, un sérum exempt d'hématies. Une autre partie est défibrinée immédiatement par agitation énergique avec des billes de verre.

On centrifuge à 2.000 tours pendant un quart d'heure et on rejette le sérum surnageant la purée globulaire, sérum légèrement teinté d'hémoglobine mise en liberté par l'agitation.

On prend trois tubes à centrifuger et l'on verse dans chacun des tubes : 20 gr. de suspension globulaire + 20 gr. de sérum exempt d'hématies. On mêle. On ajoute dans le premier tube, 2/10^e de cc. de solution aqueuse de chlorhydrate basique de quinine à 1 % en base ; dans les deux autres, respectivement 2/10^e de cc. de solution aqueuse de quinate et d'isobutyrate à la même concentration en base.

En opérant de la sorte, comme nous l'avons vérifié, ni la quantité d'eau introduite, ni la quantité d'alcaloïde, nettement inférieure à la dose hémolytique, ne provoquent de lyse des hématies. De plus, la dose d'alcaloïde est trop faible pour être précipitée ou pour provoquer une floculation du sérum.

Les trois tubes sont mis à l'étuve à 37° pendant 2 heures. Ils sont ensuite centrifugés en même temps à 2.500 tours pendant un quart d'heure. On prélève 20 gr. de sérum surnageant dans chacun des tubes.

On a finalement pour chacun des trois sels, trois parties sé-

riques, trois parties globulaires, dont on va extraire une à une l'alcaloïde.

1^o *Extraction par voie chimique.*

En 1850, STAS avait imaginé à propos d'un empoisonnement par la nicotine (affaire Bocarmé) la première méthode d'extraction des alcaloïdes.

Cette méthode est encore à la base des techniques utilisées aujourd'hui et est fondée sur les principes suivants :

1^o Les tartrates et les oxalates d'alcaloïdes sont solubles dans l'eau et dans l'alcool.

2^o Les sels d'alcaloïdes sont décomposés, en milieu aqueux, par les alcalis, avec mise en liberté de l'alcaloïde soluble dans l'éther.

Les opérations sont les suivantes : les organes finement divisés sont additionnés de 2 fois leur poids d'alcool, le mélange est acidifié par l'acide tartrique et chauffé au bain-marie vers 70°. Après un certain temps de digestion le liquide est refroidi et filtré. Le résidu et le filtre sont lavés avec de l'alcool concentré et les solutions alcooliques, réunies, sont distillées à basse température ou évaporées dans le vide, jusqu'à consistance d'extrait. Cet extrait est repris par l'alcool absolu, et la solution filtrée est évaporée à basse température. Son résidu est dissous dans l'eau, la solution acide obtenue est alcalinisée, puis épuisée à plusieurs reprises par l'éther. La solution éthérée laisse à la distillation un résidu constitué par l'alcaloïde impur, qu'il est nécessaire de purifier par les opérations suivantes : reprise par une solution aqueuse d'acide sulfurique dilué, agitation de cette solution avec de l'éther qui entraîne les impuretés, nouvelle alcalinisation et extraction à l'éther qui fournit l'alcaloïde à peu près pur.

La méthode imaginée par STAS avait l'inconvénient de fournir un premier résidu alcaloïdique fortement impur et c'est en vue de pallier à cet inconvénient que de nombreux expérimentateurs ont proposé de multiples modifications. C'est ainsi qu'OTTO, puis OGIER, puis KOHN-ABREST ont apporté divers perfectionnements qui sont devenus classiques. Depuis, une modification très heureuse a été apportée par CHÉRAMY et LOBO (45). Ces auteurs ont substitué l'acétone à l'alcool utilisé dans la méthode classique. De cette façon les émulsions si tenaces et si gênantes sont suppri-

mées. L'acétone présente sur l'alcool le double avantage de ne pas dissoudre les lécithines et de mieux précipiter les matières protidiques.

Nous avons employé une méthode mixte (*), adaptée à l'alcaloïde et au tissu sur lesquels nous expérimentons. Les opérations effectuées furent les suivantes :

On ajoute goutte à goutte, au sérum ou aux globules à traiter, 150 cc. d'alcool à 95°, acidifié par 1 % d'acide tartrique, de façon à obtenir une coagulation diffuse. On laisse en contact quelques heures puis on fait digérer au bain-marie à 60°, avec réfrigérant à reflux pendant 2 h. 1/2.

Après refroidissement on filtre et lave le résidu et le filtre avec l'alcool tartrique. Les liqueurs alcoolo-tartriques sont distillées sous vide à une température inférieure à 50°, en les introduisant par petites parties dans un appareil distillatoire de dimensions réduites. On reprend le résidu sec par 5 cc. d'eau distillée. On précipite à nouveau par addition lente de 100 cc. d'alcool absolu. On filtre, on lave et distille les liqueurs alcooliques sous vide jusqu'à sec. On reprend à nouveau par 5 cc. d'eau distillée et précipite par 100 cc. d'acétone anhydre en refroidissant le ballon encore chaud sous un courant d'eau. On filtre, lave et distille sous vide. Le résidu sirupeux est repris par 100 cc. de solution de $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$ à 20 %. On porte à l'ébullition sous vide pour chasser les dernières traces d'acétone. On refroidit énergiquement sous un courant d'eau fraîche et filtre sur un filtre mouillé (Durrieux, sans graisse). On épuise la liqueur à trois reprises par un volume égal de chloroforme après alcalinisation par l'ammoniaque. On reprend par une quantité suffisante de SO_4H_2 à 0,5 % pour faire 50 cc. La liqueur sulfurique filtrée et alcalinisée est épuisée par trois fois avec un volume égal de chloroforme. On reprend enfin le résidu de la distillation des liqueurs chloroformiques par 20 cc. d'acide sulfurique à 1 %.

On a donc finalement la quinine en solution sulfurique, limpide, exempte d'impuretés.

Cette solution est comparée par fluoroscopie aux rayons ultraviolets, à une gamme préparée avec une solution sulfurique à 1 ‰ de sulfate basique de quinine, gamme de 16 tubes dont les

(*) Nous remercions M. le Professeur R. FABRE de nous avoir donné de nombreux conseils non seulement sur les réactifs à employer, mais encore sur la conduite de l'analyse.

concentrations en base quinine diffèrent de $1/10^e$ de mgr. depuis 0 mgr. 1 jusqu'à 1 mgr. 6. La comparaison est facilitée en disposant les tubes dans un porte tubes peint en noir mat, muni d'un fond de même couleur.

Le tableau ci-dessous donne les résultats obtenus avec les trois sels sur le sang d'un même animal :

Sels	Base quinine retrouvée		Rapport quinine hématies quinine sérum
	Hématies	Sérum	
Isobutyrate	1,1	0,4	2,75
Chlorhydrate.....	1,0	0,4	2,5
Quinate.....	1,0	0,4	2,5

Nous constatons donc que :

1° Toute la quinine introduite n'est pas retrouvée par cette méthode. La perte est, en moyenne, de l'ordre de 30 %.

2° La quinine retrouvée dans la partie globulaire est nettement supérieure à celle de la partie sérique.

3° Aux erreurs d'expériences près, il n'y a pas de différence susceptible d'être mise en évidence par ces méthodes d'extraction et de dosage entre les divers sels de quinine.

La longueur des manipulations et les pertes trop considérables en alcaloïde, pouvant masquer des différences de fixation sur l'hématie, nous avons songé à utiliser une méthode plus rapide et surtout plus fidèle. Nous avons alors fait appel à une méthode physique, déjà employée par l'école de R. FABRE : l'électrodialyse.

2° Extraction par électrodialyse.

On peut faire une électrodialyse à l'aide d'une cuve à trois compartiments. Le compartiment central, séparé des deux autres par deux membranes (papier ordinaire, papier parchemin, baudruche, vessie, collodion, cellophane, etc...) contient le produit à purifier. Les compartiments latéraux contiennent de l'eau distillée dans laquelle plongent deux électrodes en platine. L'un des compartiments contient la cathode, l'autre l'anode.

La substance du compartiment central est donc soumise à une dialyse et, lorsqu'on établit une différence de potentiel entre les deux électrodes, à un champ électrique. Les ions électropositifs se dirigent vers la membrane cathodique, les ions électronégatifs vers la membrane anodique. Ces ions traversent les membranes et passent en solution dans leurs compartiments respectifs.

On combine ainsi les effets d'un phénomène d'électrolyse (séparation des ions) et d'un phénomène d'osmose (séparation des substances dialysables de celles qui ne le sont pas).

L'électrodialyse a été appliquée avec succès à la biologie en vue de purifier les milieux organiques complexes (travaux de MORSE et PIERCE (214), TRIBOT et CHRÉTIEN (321), DHÉRÉ (64), TRAUBE et ONODERA (319), LISBONNE et VULQUIN (177), KOPACZEWSKY (152), etc.) en séparer et doser des électrolytes (WERNICKE (332), BEARNHARD et BEAVER (17), BENEDETTO (19), ETTISCH, BRADFIELD et EWIG (76), CONSOLAZIO et TALBOTT (55), etc.) de séparer et doser quelques bases organiques comme la carnosine, la créatinine et la créatine (SEVERIN (299), SCHERSCHNEW (291)), l'histidine, l'histamine et la choline (FUELNEGGAND (97), MACGREGOR et THORPE (187)).

Elle a été appliquée à la recherche toxicologique par R. FABRE (81) dont l'élève J. TABONE (310) a mis au point un appareillage et une technique d'extraction qui lui ont permis de retrouver avec des rendements très supérieurs aux méthodes classiques, des corps aussi différents que l'arséniate de sodium, le véronal et la strychnine. Cette technique a donné de bons résultats à S. BAZILLE (16) dans son étude sur la toxicologie du fluor. R. FABRE et P. OFICJALSKI l'ont appliquée à l'extraction des alcaloïdes de la noix vomique, du quinquina et de l'ipéca (82) ainsi qu'à la recherche toxicologique de la strychnine (83).

Nous n'étudierons pas ici la théorie de ce procédé physique d'extraction, on trouvera dans l'excellent travail de J. TABONE, dont nous nous sommes largement inspiré, toutes les données relatives à cette question ; mais nous rappellerons les conclusions générales de cet auteur dans ce qu'elles ont d'intéressant pour nous et surtout nous décrirons sommairement son appareil.

De son étude il résulte que :

1^o Les toxiques se divisent, du point de vue électrodialyse, en deux groupes : les toxiques « rapides » tels que l'arséniate de so-

dium, le sulfate de strychnine et en général les électrolytes forts ; les toxiques « lents » tel que le véronal et en général les électrolytes faibles.

2° L'électrolyse est la résultante de deux phénomènes : l'électrophorèse et la dialyse. L'importance relative de ces deux phénomènes est sous la dépendance du facteur de dissociation du toxique.

3° Il existe une « dialyse contraire » provoquant un transport de la substance en sens opposé à celui du transport électrique. Cette dialyse contraire retarde toujours la fin de l'électrodialyse, elle peut en provoquer l'arrêt. Cet effet inhibiteur se manifeste, pour une température et une concentration données, à une différence de potentiel que TABONE appelle « potentiel minimum d'électrodialyse ».

4° Lorsqu'on passe de l'électrodialyse des solutions aqueuses à l'électrodialyse des milieux biologiques, il apparaît deux phénomènes retardateurs. Le premier est dû aux électrolytes dialysables présents dans les tissus ; le second est dû aux électrolytes colloïdaux : protéines. Le mécanisme du premier est complexe, celui du second se résume en un colmatage des membranes.

5° Les liqueurs anodiques et cathodiques provenant de l'électrodialyse des milieux biologiques sont dans un état de pureté tel qu'on peut y caractériser directement le toxique ou l'isoler rapidement sans qu'il soit nécessaire de passer par une série d'opérations laborieuses.

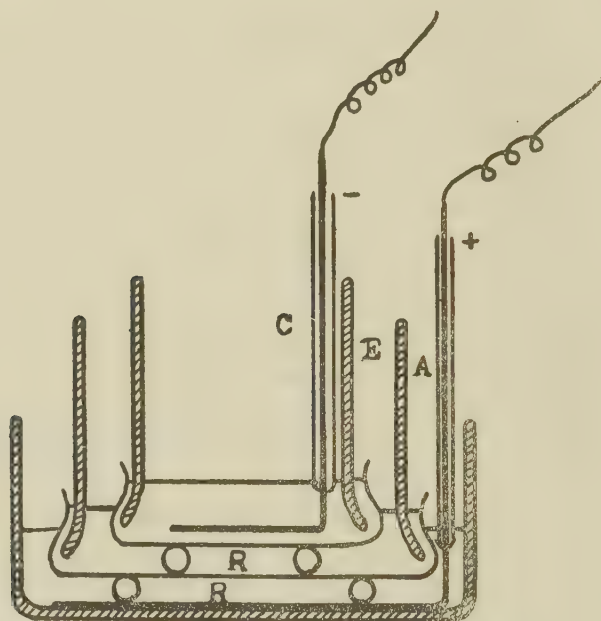
6° Les réactions secondaires qui peuvent avoir lieu au niveau des électrodes et amener une destruction plus ou moins complète du toxique sont en général minimales ou nulles dans le cas de l'électrodialyse des milieux biologiques.

7° Le champ électrique a un pouvoir de pénétration supérieur à celui des solvants utilisés dans les méthodes classiques, aussi les rendements sont-ils plus élevés. La dialyse électrique apparaît comme un procédé d'extraction très souvent plus rapide et toujours moins laborieux que les méthodes d'extraction par voie chimique.

Les multiples modèles d'électrodialyseurs qui ont été utilisés ne sont que des modifications des premiers appareils à trois compartiments imaginés par DHÉRE. L'appareil de TABONE est également un dispositif à trois compartiments qui comprend le matériel suivant :

Un cristallisoir de 12 cm. de diamètre et deux manchons cylindriques en pyrex de 9 et 6 cm. de diamètre et de 10 cm. de hauteur. Les cylindres sont susceptibles d'être recouverts d'une membrane à leur partie inférieure.

Les cylindres et les cristallisoirs délimitent entre eux trois espaces concentriques : l'espace médian reçoit la substance à électrodialyser, les compartiments extérieurs renferment les électrodes et de l'eau distillée. Les membranes, en cellophane, solidement ficelées sur leurs manchons respectifs sont ainsi horizontales.



Electrodialyseur de Tabone.

- A : Anode.
- C : Cathode.
- E : Compartiment central.
- R : Réfrigérant.

Les électrodes sont constituées par des lames circulaires en platine, leur diamètre est légèrement plus petit que celui des cylindres auxquels elles correspondent.

Les manchons reposent par leurs membranes sur des supports de verre constitués par deux tubes cylindriques dans lesquels on

établit une circulation d'eau froide qui assure dans les conditions des expériences de l'auteur, une bonne réfrigération.

Le courant utilisé est du courant alternatif redressé par valves électroniques (redresseur Ferrix, modèle R-G II). Sous le voltage 40-120 volts une seule alternance est redressée.

Les protéines allant rapidement colmater la membrane cathodique (membrane supérieure), on décape celle-ci, partiellement, à l'aide d'un courant de gaz carbonique réglé de façon que les bulles, régulièrement espacées, parcourent suivant un diamètre, la membrane légèrement inclinée (*).

Dans ces conditions l'intensité maximum du courant électrique obtenu par électrodialyse de milieux biologiques a été de 160 milliampères et le temps nécessaire à l'extraction d'un milligramme de strychnine mêlé à du foie haché, est de 6 heures pour un rendement de 99,8 %.

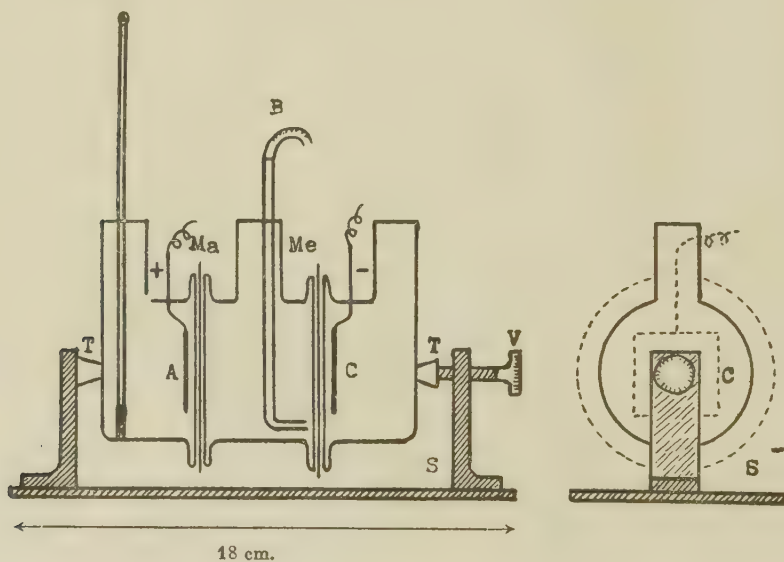
R. FABRE et P. OFICJALSKI (82) ayant récemment réussi, par cette méthode, à extraire la quinine de la poudre de quinquina avec des rendements de l'ordre de 95 %, nous avons essayé d'emblée, avec un appareillage de dimensions plus réduites, d'extraire la quinine de la partie globulaire ou de la partie sérique du sang, traité comme nous l'avons indiqué. La quinine étant une base dont les sels peuvent être considérés, nous le savons, comme des électrolytes forts, sa molécule se reforme à la cathode. De plus, comme elle est très peu soluble dans l'eau et que nous opérons sur de très faibles quantités, la concentration maximum du comportement cathodique sera très faible. La vitesse de dialyse contraire est donc négligeable. Pour hâter encore l'électrodialyse, nous avons utilisé, au lieu de courant électrique redressé, du courant continu sous un voltage de 40-80 ou 120 volts. Nous avons alors constaté d'une part que, dans ces conditions, le coagulum précipité à la membrane cathodique l'était trop fortement pour être utilement détergé par le courant de gaz carbonique, dont le barbotage provoque la formation d'une mousse tenace, d'autre

(*) Pour J. TABONE l'amélioration considérable qu'il a obtenue par ce moyen, provient du fait que « le courant de gaz carbonique provoque un brassage du contenu central et active ainsi le transport des protéines. De la même façon il doit favoriser le passage de l'ion toxique dans l'un des compartiments ». Nous avons constaté que la substitution d'azote au gaz carbonique diminue beaucoup le rendement. Il y a donc peut-être aussi, une action du CO_2 sur la perméabilité de la membrane.

part que l'élévation de température était telle malgré la circulation d'eau réfrigérante, qu'elle suffit à elle seule à expliquer les rendements médiocres que nous avons obtenus. Nous avons ainsi été amené immédiatement à envisager la suppression de ces inconvénients, par une modification de l'appareil et nous avons fait construire le dispositif ci-dessous.

Il comprend également trois parties en verre pyrex : deux parties latérales constituées par deux boîtes à fond plat, à bords rodés, munies d'un ajutage. Une partie médiane, constituée par un gros tube de verre de même diamètre que les boîtes latérales et dont les bords sont rodés. Cette partie est également munie d'un ajutage.

Ces différentes pièces sont maintenues ensemble, entre deux tampons de caoutchouc, comme l'indique la figure, à l'aide d'un système de serrage à vis en duralumin, les rodages des bacs latéraux tenant les membranes de cellophanes, exactement tendues,



Electrodialyseur vertical.

- A : Anode en platine.
- C : Cathode —
- S : Support en duralumin.
- T : Tampons de caoutchouc.
- V : Vis de serrage.
- B : Tube à CO_2 .
- Ma : Membrane anodique.
- Me : Membrane cathodique.

serrées contre les rodages du bac médian. Des électrodes de platine de forme carrée, placées à environ 1 mm. de la membrane, reçoivent le courant par des fils de platine qui traversent la paroi des bacs cathodique et anodique.

Les dimensions de l'appareil sont indiquées par la figure. Lorsque les membranes sont posées, le bac anodique a une contenance de 100 cc., le bac central de 85 cc. et le bac cathodique de 75 cc.

Un tube de verre recourbé amène, depuis un obus à gaz comprimé, un courant de gaz carbonique qui balaie de bas en haut la partie centrale de la membrane cathodique. Celle-ci, étant verticale, se colmate beaucoup moins que dans le dispositif horizontal et la majeure partie du coagulum tombe au fond du bac médian.

Enfin tout l'appareil est plongé dans une cuve de dimensions convenables, contenant de la glace pilée. Même avec les courants les plus intenses, jusqu'à 1 et 2 ampères, la température ne monte jamais dans ces conditions au-dessus de 30°.

Nous avons employé des membranes de cellophane n° 400, à 40 gr. au mètre carré, passées à l'eau distillée avant d'être appliquées sur les rodages. Comme source de courant nous utilisons 4 accus Dinin de 40 volts, 7 ampères-heure, dont deux sont en dérivation et placés en série avec les deux autres, de façon à pouvoir obtenir une source de courant continu de 40-80 ou 120 volts à volonté.

Avec cet appareil nous avons constaté en plaçant dans le bac médian 2 mgr. de base quinine en solution dans l'eau distillée sous forme de chlorhydrate, que la quinine passe dans le bac cathodique et que sous une différence de potentiel de 40 volts, tout est passé en 1 h. 1/2. On peut le constater en dosant la quantité contenue dans le bac cathodique par fluoroscopie, ou bien en observant que la liqueur du bac médian présente, après ce temps d'électrodialyse, même en milieu sulfurique, une fluorescence très faible ou nulle.

Voici les détails techniques que nous avons adoptés après de multiples essais :

L'appareil étant monté et muni de ses membranes, les bacs cathodique et anodique sont remplis d'eau distillée, le bac médian reçoit le contenu d'un tube à centrifuger (suspension globulaire ou sérum) y compris les eaux de lavage, de façon que le niveau

affleure sensiblement la base de la tubulure supérieure. Pour éviter la mousse provoquée par le brassage du milieu par le CO_2 , on ajoute 1 cc. d'eau distillée saturée d'alcool octylique. On porte l'électrodialyseur, après s'être assuré qu'il n'y a pas de fuites, dans la glace pilée. On réunit les électrodes aux bornes des accus par un circuit qui comprend un milliampèremètre en série et un voltmètre en dérivation. On plonge un thermomètre dans le bac anodique pour pouvoir suivre les variations de température. On fait dégager le CO_2 (3 à 4 bulles à la seconde environ) et l'on applique d'emblée une différence de potentiel de 40 volts.

Comme l'a vu TABONE, l'intensité monte rapidement jusqu'à un maximum variable selon le tissu expérimenté. Au bout d'un quart d'heure cette intensité commence à baisser ou se maintient aux environs de 150 à 250 milliampères. On double alors le voltage et applique 80 volts. Un quart d'heure après, l'intensité n'étant plus que de 125 à 200 milliampères, on applique 120 volts et poursuit l'électrodialyse pendant environ 4 heures.

Dans les expériences préliminaires, nous avons suivi la marche de l'électrodialyse par un dosage fluoroscopique conduit comme suit :

Le bac cathodique ayant un volume de 75 cc., on prépare une solution à 0 gr. 001 de base quinine dans 75 cc. d'eau distillée (1 cc. de solution de chlorhydrate basique à 1 ‰ en base et q. s. d'eau distillée pour 75 cc.).

Dans une série de tubes de 10 mm. de diamètre intérieur, exactement calibrés, on verse :

N° des tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Solut. de chl. quinine en cc.	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2	1,3	1,4
Eau distillée en cc.	1,9	1,8	1,7	1,6	1,5	1,4	1,3	1,2	1,1	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6
SO_4H_2 N/10 en cc. .	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0

Il suffit alors de prélever, après agitation, 1 cc. de liqueur cathodique dans un même tube à essai, d'ajouter 1 cc. d'eau + 2 cc. de SO_4H_2 N/10 et de passer aux rayons ultra-violet. Le N° du tube correspondant de la gamme, donne la quantité de quinine

base, en dixièmes de milligramme, contenue dans le bac cathodique.

Lorsque la quantité de quinine passée est supérieure à 1 mgr., il est bon de diluer le contenu du tube à comparer par addition de 2 cc. d'eau + 2 cc. de SO_4H_2 N/10. Au-dessus du tube N° 10, les différences quantitatives de la fluorescence sont difficiles à saisir à l'œil, alors qu'il est aisé, *avec la source de rayons U.-V. utilisée (lampe Reichert)*, de les déterminer dans la zone inférieure.

Le prélèvement de liqueur est si faible qu'il peut être répété sans apporter d'erreur supérieure à celle du dosage fluoroscopique.

Nous donnons ci-dessous une expérience poursuivie avec une suspension globulaire et le sérum d'un sang traité, comme nous l'avons décrit, par du chlorhydrate de quinine.

Partie globulaire.

Heures	Volts	Milliampères	Température	Quinine base en mmg.
14 h. 30	40		17°	
14 h. 45	80	300	15°	
15 h.	120	250	15°	
16 h. 30	120	120	14°	0,8
17 h. 30	120	110	15°	1,0
18 h. 30	120	110	15°	1,2
19 h. 30	120	110	15°	1,2

Partie sérique.

Heures	Volts	Milliampères	Température	Quinine base en mmg.
15 h. 35	40		15°	
15 h. 50	80	500	18°	
16 h. 05	120	400	18°	
16 h. 35	120	175	18°	0,6
17 h. 35	120	120	18°	0,7
18 h. 35	120	120	18°	0,7
19 h. 05	120	110	18°	0,5

Nous constatons que l'extraction de la quinine passe par un maximum qui correspond à la quantité d'alcaloïde contenue dans

le tissu. Il y a, soit légère destruction de la quinine, soit, ce qui est plus admissible, erreur apportée dans le dosage par l'accumulation des autres ions électro-positifs qui tendent à alcaliniser la liqueur extractive. Malgré cela, 90 % de la quinine introduite peuvent être mis en évidence en 2 à 4 heures, des tissus traités.

D'autres expériences nous ont donné des rendements supérieurs, mais pour éviter ces deux causes d'erreur possibles, nous avons modifié la méthode de dosage de l'alcaloïde et nous nous sommes adressé à la technique colorimétrique de PRUDHOMME (239).

Le tissu étant mis à électrodialyser dans les mêmes conditions que précédemment, on prélève la totalité du contenu du bac cathodique après 2 heures d'électrodialyse et on le verse dans une fiole jaugée de 200 cc. On remplit le bac cathodique d'eau distillée et poursuit l'électrodialyse encore 2 heures. On prélève et réunit les secondes liqueurs aux premières. On ajoute 1 goutte de teinture de tournesol et quantité suffisante d'acide chlorhydrique pour neutraliser et obtenir la teinte sensible. On complète à 200 cc. avec de l'eau distillée.

On soustrait ainsi la majeure partie de la quinine à une action destructrice, si elle existe. On a finalement tout l'alcaloïde extrait en liqueur neutre au tournesol, liqueur sur laquelle il est possible d'effectuer la réaction colorimétrique de PRUDHOMME qui va permettre le dosage.

Pour cela on prépare, par dilution exacte d'une liqueur plus concentrée, une solution étalon à 1/200.000 de base, soit 0 mgr. 5 de base sous forme de chlorhydrate de quinine pour 100 cc.

Dans un tube à essai on mesure 10 cc. de la liqueur provenant de l'électrodialyse. Dans un autre tube 10 cc. de solution étalon. Dans les 2 tubes, 2 cc. de solution tampon + IV gouttes de solution d'éosine + 3 cc. de chloroforme. On agite. On laisse séparer et décanter la partie aqueuse. On passe les solutions chloroformiques colorées en rose, au colorimètre. Ce dosage donne, en effet, de bons résultats au colorimètre, si l'on a soin de préparer une solution étalon dont la concentration en alcaloïde est voisine de celle de la liqueur de titre inconnu.

Par cette technique, nous avons retrouvé 90 à 100 % de la quinine introduite. Nous disposions donc d'un procédé d'extraction et de dosage susceptible de nous donner des renseignements précis.

Avant d'étudier la fixation de différents sels de quinine nous avons vérifié, en traitant du sérum seul avec une solution de chlorhydrate et en lui faisant subir les mêmes opérations qu'au sang total, que l'on ne retrouvait pas plus de quinine dans la partie inférieure du tube à centrifuger que dans la partie supérieure (*).

Pour cela, 40 gr. de sérum exempt d'hématies, placés dans un tube à centrifuger, ont été additionnés de 2/10^e de cc. d'une solution de chlorhydrate basique de quinine à 1 % en base. Après mélange par renversements successifs, le tout a été mis à l'étuve à 37° pendant 2 heures. On a ensuite centrifugé à 2.500 tours pendant 1/4 d'heure. On a prélevé 20 gr. de sérum dans la partie supérieure et extrait l'alcaloïde. On a traité de même façon les 20 gr. de sérum restant dans le fond du tube. On a retrouvé la totalité de la quinine introduite, soit 1 mgr. de base dans la partie inférieure et 1 mgr. de base dans la partie supérieure.

La méthode ne comporte donc pas de cause d'erreur imputable à une précipitation de la quinine par la réaction du sérum, ou à une fixation de celle-ci sur des albumines précipitées.

Nous donnons ci-dessous les résultats obtenus en comparant sur un même sang la fixation de la quinine d'une part sous forme de chlorhydrate et d'isobutyrate, d'autre part sous forme de chlorhydrate et de quinate.

Sels	Quinine trouvée dans la partie globulaire	Quinine trouvée dans la partie sérique	Rapport <u>globules</u> sérum
Chlorhydrate.....	1,2	0,7	1,7
Isobutyrate.....	1,2	0,7	1,7
Chlorhydrate.....	1,2	0,7	1,7
Isobutyrate.....	1,2	0,7	1,7
Chlorhydrate.....	1,2	0,8	1,5
Quinate.....	1,1	0,7	1,5
Chlorhydrate.....	1,2	0,6	2
Quinate.....	1,2	0,6	2

(*) Les auteurs qui étudient la fixation des substances médicamenteuses sur les hématies *in vitro*, ne font généralement pas cette contre-épreuve, qui, à notre avis, est très importante.

La méthode électrique permet plus facilement que la méthode chimique, l'extraction de l'alcaloïde extraglobulaire puisque les quantités de quinine retrouvées sont sensiblement les mêmes pour la partie figurée du sang par les deux méthodes, alors qu'elles sont bien plus fortes pour la partie sérique, par électrodialyse. Là encore, pour les sels étudiés, l'acide qui salifie l'alcaloïde ne modifie pas la fixation de celui-ci sur la partie figurée du sang de Porc.

CONCLUSION.

Confirmant les résultats obtenus par R. FABRE et ses élèves, nous avons proposé une technique d'extraction de la quinine des milieux biologiques par électrodialyse. Cette méthode nous a permis de retrouver, à l'aide du dosage colorimétrique de PRUDHOMME, 90 à 100 % de la quinine introduite.

Nous avons ainsi constaté, en opérant sur du sang de Porc, *in vitro*, que conformément aux conclusions de R. FABRE, la quinine se fixe électivement sur la partie globulaire. Le rapport érythro-sérique est donc nettement en faveur des hématies, même en l'absence d'uréthane.

Mais il ne nous a pas été possible de mettre en évidence, avec les chlorhydrate, isobutyrate et quinate basiques, une différence quantitative de fixation de la quinine sur l'hématie, selon l'acide qui la salifie.

Action hémolytique des sels de Quinine.

Il est manifeste qu'une grande partie des phénomènes hémolytiques peuvent être considérés comme des phénomènes de perméabilité. E. GELLHORN et J. RÉGNIER (106) citent maintes fois le processus d'hémolyse, comme test d'une modification de la perméabilité de la membrane limitante des hématies. Parmi bien d'autres substances (toxines, venins, saponines, sels biliaires, hémolysines, etc...) les alcaloïdes sont, d'une façon générale, doués d'un certain pouvoir hémolytique qui serait, d'après SIEBURG (300), sous la dépendance de la concentration en ions H^+ . Cette propriété a été très étudiée, soit dans un but théorique, pour connaître la fixation de ces bases sur les érythrocytes et suivre ainsi leur action sur la perméabilité cellulaire, soit dans un but pratique, lorsqu'on avait affaire à des corps susceptibles d'être injectés à proximité ou dans des vaisseaux sanguins et que des renseignements sur leurs propriétés hémolytiques apparaissent utiles. Citons pour mémoire les travaux de M. ARLOING (9), G. MANCA (191), H. KOEPPE (148), R. GOLDSCHMIDT (112), G. FISCHER (88), TOMINAGA et HAYASHI (316), K. BAADÉ (11), HAUBACH (120)...

C'est surtout à O. GROS (115), E. PRIBRAM (236) et L. LAUNOY (168) que nous sommes redevables de comparaisons nettes entre l'action globulicide de divers sels alcaloïdiques (anesthésiques locaux).

D'après DIACONO (65) qui a consacré au phénomène hémolytique un travail fort documenté, la quinine a un pouvoir hémolytique marqué, étudié par PRIBRAM (235) et qui est favorisé par le salicylate de sodium.

R. FABRE (79) a mis à profit un procédé spectrophotométrique d'étude de l'hémolyse qu'il avait imaginé, pour étudier l'action

hémolytique du chlorhydrate basique de quinine sur les globules de Chien en fonction du temps.

DODEL (68) étudiant le phénomène de « phylaxie » mis en évidence par BILLARD (21), à savoir que des substances normalement hémolytiques peuvent devenir antihémolytiques lorsqu'elles sont combinées à une autre substance elle-même hémolytique, a fait les observations suivantes : « les globules rouges de Mouton, mis en présence, pendant un certain temps, de solutions faibles d'aldéhyde formique, débarrassés ensuite de la solution de formol et mis en contact avec une solution hémolytante de bromhydrate de quinine, sont capables de résister à cette action destructive. Au contraire, le formol, aux mêmes concentrations, mis en même temps que le sel de quinine, non seulement n'empêche pas l'hémolyse, mais l'accélère. Ce formol *préventif* a donc une véritable action phylactique ». Dans le même ordre d'idées, DODEL a étudié l'action « phylactique » du salicylate de sodium, des savons de soude (oléate, stéarate, palmitate), du pyramidon, vis-à-vis de l'hémolyse par le sulfate de spartéine.

Récemment PONDER et ABELS (231) ont déterminé la résistance des globules rouges de Lapin à l'égard du chlorhydrate de quinine. Ils ont constaté, *in vitro*, une faible action additive ou accélératrice sur le pouvoir hémolysant de la saponine et du taurocholate de soude.

In vivo, l'injection répétée de quinine provoque une diminution de résistance des hématies à la saponine et au taurocholate de soude. Les auteurs pensent que la diminution du taux des hématies est due à une hémolyse intravasculaire provoquée par des hémolysines et non par la quinine. Celle-ci ne ferait que renforcer le pouvoir des hémolysines. Cette conception s'accorde avec les faits observés par NOCHT et KIKUTH (221) qui ont signalé que la quinine renforce le pouvoir hémolytique du venin de Cobra et de la lysocythine.

Mais si la quinine présente une action hémolytique, A. SCHNABEL (294) signale qu'aux faibles concentrations, elle retarde l'hémolyse dans un système formé de la manière suivante : sérum de Lapin immunisé contre les globules rouges, ces hématies, sérum frais de Cobaye (comme complément). Pour expliquer cette action paradoxale, SCHNABEL pense que, dans un premier stade, la quinine est adsorbée par l'hématie puis, dans un second

stade, celui de l'hémolyse, l'alcaloïde est rendu au milieu ambiant. Cette interprétation diffère de celle de CHRISTOPHERS (49) pour lequel il y aurait adsorption d'ions H^+ ou OH^- , comme dans le cas des sels alcalins, adsorption dont la conséquence serait de troubler l'état colloïdal de l'hémoglobine et de la disperser au delà de la limite critique compatible avec l'état de gel.

Quoi qu'il en soit, il ne semble pas que les auteurs, qui se sont occupés de cette question, aient pris en considération le problème qui nous occupe, à savoir l'influence de l'acide salifiant l'alcaloïde sur ce phénomène. Or, il nous paraît que l'étude du pouvoir hémolytique de la quinine en fonction de ce facteur, procédé indirect pour connaître la fixation de l'alcaloïde sur l'hématie, est un moyen d'investigation susceptible, par sa sensibilité, de nous donner des indications que l'étude directe nous a refusées.

Notre protocole d'expériences a été le suivant :

Nous avons expérimenté sur le sang de Porc, recueilli à l'abattage, défibriné et centrifugé 10 minutes à 1.000 tours/minute. Le sérum légèrement teinté d'hémoglobine libérée au cours de la défibrination, est décanté et remplacé par la même quantité d'eau glucosée isotonique, soit 58 gr. 37 de glucose par litre (*). On mêle, on centrifuge à nouveau dans les mêmes conditions. On répète l'opération trois fois de façon à débarrasser les hématies de leur sérum.

On obtient finalement une suspension globulaire qui, comptée à l'hématimètre, donne environ 5 millions d'érythrocytes par millimètre cube, parfaitement conservés, ce qui justifie le choix de la solution isotonique de glucose, en place de solution isotonique de chlorure de sodium généralement utilisée, et qui est imposé par la nécessité de ne pas apporter d'anion étranger susceptible de déplacer les acides plus faibles de nos sels.

On prépare des solutions de sels de quinine dans l'eau glucosée à 58,37 pour mille et à 0 gr. 312 de base pour 100 cc.

L'action hémolytique de chaque sel est étudiée à différentes

(*) DOGNON (69) donne pour le sérum de porc $\Delta = 0,60$ environ. En appliquant la loi de RAOULT :

$$P = \frac{\Delta M}{K}$$
$$\text{On a } \frac{0,60 \times 180}{1,85} = 58,37.$$

concentrations à l'aide d'une série de 10 tubes qui contiennent respectivement les quantités de liquides indiquées ci-dessous :

Tubes	Suspension globulaire	Eau glucosée	Solution du sel de quinine	Titre % en base anhydre
témoin	0 cc. 5	2 cc.	0 cc.	0
1	0,5	1,8	0,2	0,025
2	0,5	1,6	0,4	0,05
3	0,5	1,4	0,6	0,075
4	0,5	1,2	0,8	0,10
5	0,5	1	1	0,125
6	0,5	0,8	1,2	0,15
7	0,5	0,6	1,4	0,175
8	0,5	0,4	1,6	0,20
9	0,5	0,2	1,8	0,225
10	0,5	0	2	0,25

Nous avons étudié ainsi et simultanément les sels suffisamment solubles dans l'eau glucosée aux concentrations nécessaires à savoir : gluconate, quinate, lactate, chlorhydrate, bromhydrate, isobutyrate, valérienate, formiate. Pour le phénylacétate (*) nous avons préparé une solution à 0 gr. 125 de base pour 100 cc. et nous avons procédé à la répartition suivante :

Tubes	Suspension globulaire	Eau glucosée	Solution de phénylacétate	Titre % en base anhydre
témoin	0 cc. 5	2 cc.	0 cc.	0
1	0,5	1,5	0,5	0,025
2	0,5	1	1	0,05
3	0,5	0,5	1,5	0,075
4	0,5	0	2	0,10

Cette zone de concentrations utiles, a été déterminée après nombre d'expériences préliminaires. Nous nous appuyons, pour décrire les phénomènes observés, sur une expérience type, effectuée alors que la température du laboratoire a varié entre 15° et 18°.

(*) Nous n'avons pas ajusté les diverses solutions au même pH avec les acides correspondants pour ne pas faire intervenir la tension superficielle de façon trop considérable.

Dès le début, après mélange convenable du contenu des tubes, nous avons remarqué une sédimentation des hématies relativement rapide pour certains sels.

Le tableau suivant traduit les faits observés après deux heures de contact. Nous appelons : ++ une sédimentation complète c'est-à-dire culot d'hématies nettement déposé, avec petits amas projetés sur la paroi du verre.

Nous notons : + une sédimentation moyenne, c'est-à-dire culot d'hématies surmonté d'un brouillard globulaire.

Une sédimentation nulle est figurée : — les tubes montrent dans ce cas une purée globulaire surmontée d'une tranche mince de liquide limpide, ainsi que se présentent les témoins.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Témoins
Gluconate	—	—	—	+	+	+	++	++	++	++	—
Quinate	—	—	+	+	++	++	++	++	++	++	—
Lactate	—	—	+	+	++	++	++	++	++	++	—
Chlorhydrate ..	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—
Bromhydrate ..	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—
Isobutyrate ...	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—
Valérianate. . .	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—
Formiate.	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—
Phénylacétate .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Les sels de quinine agissent donc différemment, dans ces conditions, sur la vitesse de sédimentation des hématies. De ce point de vue, on peut les classer de la façon suivante, en allant des plus actifs aux moins actifs :

Quinate, lactate > gluconate > chlorhydrate, bromhydrate, formiate, isobutyrate > valérianate. Le phénylacétate s'inscrit, lui aussi, parmi les moins actifs.

Cette observation est un nouvel aspect des faits déjà anciens rapportés par BINZ (27) sur l'action inhibitrice de la quinine sur le mouvement brownien des micelles colloïdales et sur la précipitation rapide par cet alcaloïde de suspensions d'argile. Mais nous mettons en évidence que la vitesse de sédimentation est variable selon l'acide qui salifie la quinine. Il s'agit là d'une action plus ou moins forte sur la charge électrique des particules en suspension. L'ordre d'activité des sels suit, dans ce cas, une

Hémolyse après 40 heures.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Témoins
Gluconate	—	—	—	—	—	++	++	++++	+++	+++	—
Quinate	—	—	—	—	+	++	++	++++	+++	+++	—
Lactate.	—	—	—	—	++	++++	++++	++++	+++	+++	—
Chlorhydrate..	—	—	—	—	+	++	++	++++	+++	+++	—
Bromhydrate..	—	—	—	—	—	+	++	++++	+++	+++	—
Isobutyrate ...	—	—	—	+	++	++++	++++	++++	+++	+++	—
Valérianate....	—	—	—	—	+	++++	++++	++++	+++	+++	—
Formiate.....	—	—	—	—	+	++++	++	++++	+++	+++	—
Phénylacétate.	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—

L'examen de ces résultats nous montre de façon assez nette que l'action hémolytique de la quinine, dans les conditions de nos expériences, est influencée par l'acide qui la salifie. Si nous classons les sels par ordre d'activité décroissante nous obtenons la série suivante :

Phénylacétate, isobutyrate > valérianate, formiate, lactate > chlorhydrate, quinate > bromhydrate, gluconate.

Si nous exceptons le lactate, dont l'activité hémolytique apparaît forte, nous retrouvons une série qui s'apparente assez à celle que nous avons obtenue sur les Protozoaires et qui s'accorde avec les faits observés pour d'autres alcaloïdes. En considérant l'hémolyse dans sa conception élémentaire, comme le passage, par diffusion et dissolution, de l'hémoglobine globulaire dans le liquide qui baigne les hématies, on peut penser que les sels à acides porteurs d'un noyau benzénique ou d'une chaîne grasse augmentent la perméabilité du stroma, alors que les sels à acides chargés de fonctions OH la diminuent. Il semble donc que l'on puisse admettre, à partir de ces faits, que la quinine pénètre mieux dans le globule rouge à l'état de phénylacétate ou d'isobutyrate qu'à l'état de quinate ou de gluconate. Cette conception cadre d'ailleurs avec les faits observés, nous l'avons vu, par J. RÉGNIER et R. DAVID (250) sur la cornée du Lapin avec les sels de cocaïne.

Ainsi l'étude indirecte du phénomène, par l'hémolyse, nous donne une réponse que la recherche directe de la fixation de la quinine sur l'hématie n'a pu nous donner.

Si nous confrontons les résultats de ces expériences avec ceux obtenus sur les Protozoaires, il apparaît que l'action antimalarique de la quinine doit varier avec l'acide qui la salifie. Cette étude mériterait donc d'être tentée du point de vue expérimental.

Action des sels de quinine sur les terminaisons nerveuses de la cornée et le tronc nerveux moteur.

La quinine aurait des propriétés anesthésiques locales qui sont depuis longtemps connues et qui porteraient principalement d'après DIXON (67), sur les terminaisons nerveuses. Utilisée d'abord par STOKVIS (308) et ORMSBY (223), la quinine a été étudiée de ce point de vue par MORGENROTH et GINSBERG (211) sur la cornée. Elle aurait, d'après ces auteurs, une activité anesthésique comparable à celle de la cocaïne. EULENBURG (77), SCHEPELMANN (290), SCHAEFER (289), COOPER (54), GOYENA (114), SAPHIR (287), POULSSON (233), FRÉDÉRICQ et LAPICQUE (94), RENESCU et DOROGAN (272)... l'ont appliquée sur les nerfs moteurs ou sensitifs. HEIDENHAIN (d'après ROHDE (279) a reconnu son action paralysante sur la corde du tympan chez le Chien, BARABASCHEW (13) a montré qu'elle anesthésie la peau.

Associée, sous forme de chlorhydrate, en proportion moléculaire, à l'urée, la quinine donne un sel défini, chlorhydrate de quinine et d'urée, utilisé comme anesthésique local sous le nom d'Anacaïne. MEYER et GOTTLIEB (198) ont rapporté, en outre, que les dérivés de l'hydroquinine possèdent une très forte action anesthésique.

Nous avons repris l'étude de cette propriété de la quinine dans le but de voir si cette activité pharmacodynamique varie avec l'acide qui salifie l'alcaloïde. Nous nous sommes adressé, pour effectuer des comparaisons quantitatives, aux terminaisons nerveuses sensibles de la cornée du Lapin et aux fibres motrices du nerf sciatique isolé de la Grenouille, en utilisant les techniques de J. RÉGNIER que nous employons journellement au laboratoire.

1^o *Action des sels de quinine sur la cornée du Lapin.*

Principe de la méthode de J. RÉGNIER (243). — Une seule excitation de la cornée d'un œil normal, produite par un crin fin, fait apparaître une réaction de cet œil sous la forme du réflexe oculo-palpébral. Un œil anesthésié ne réagit plus à cette excitation unique, mais cependant, on constate que pour certaines anesthésies, le réflexe se produit à la suite de la répétition d'un certain nombre de ces excitations. Pour d'autres anesthésies, au contraire, le nombre des excitations nécessaires pour obtenir une réponse par réapparition du réflexe est d'un ordre tel que l'on peut considérer la cornée comme inexcitable. Il apparaît que le nombre des excitations nécessaires pour provoquer le réflexe est proportionnel à la puissance d'action de l'anesthésique. Ce fait serait à rattacher au phénomène de la « sommation des excitations » ou de « l'addition latente des excitations ».

Dans l'application pratique de cette propriété, J. RÉGNIER considère que la non apparition du réflexe oculo-palpébral à la suite de 100 excitations de la cornée est le signe d'une anesthésie complète. L'anesthésie existe, mais d'une façon imparfaite, lorsque le réflexe apparaît à la suite d'un nombre d'excitations supérieur à 1, mais inférieur à 100.

La méthode de mesure, basée sur ces considérations, permet d'exprimer le pouvoir anesthésique relatif de diverses substances anesthésiques locales.

Chaque expérience a une durée d'une heure. A la minute 0 et à la minute 4, l'existence normale du réflexe est vérifiée par une seule excitation de la cornée au crin. On dépose sur l'œil 1/20^e de centimètre cube de la solution anesthésique à la minute 4 1/2 et à la minute 5 1/2.

La recherche de l'anesthésie commence à la minute 8 par des excitations répétées dont on compte le nombre.

Le rythme de ces excitations est de 100 par minute environ. On arrête dès que le réflexe se produit, c'est-à-dire dès que la fermeture rapide, mais complète de la paupière a été provoquée, et on note le chiffre obtenu. De toutes façons, on arrête les excitations dès que le nombre 100 est atteint, même si le réflexe ne se produit pas, ce qui est le signe de l'anesthésie complète. L'essai est répété aux minutes 8, 10, 12 1/2, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60.

Les résultats peuvent être exprimés par une courbe obtenue en portant les temps en abscisses et, en ordonnées, le nombre des excitations nécessaires pour provoquer l'apparition du réflexe. On exprime plus couramment les valeurs des anesthésies par des chiffres obtenus en additionnant les divers nombres d'excitations qui ont été nécessaires depuis la minute 8 jusqu'à la minute 60. Le chiffre minimum 13, correspondant à l'ensemble des 13 expériences, montre l'absence totale d'anesthésie. Le chiffre maximum indiquant une anesthésie complète pendant toute la durée de l'expérimentation est de 1.300, soit 100 excitations sans réponse à chaque mesure. Le chiffre 20 est considéré comme seuil de l'anesthésie.

Pour connaître le pouvoir anesthésique d'un produit on le compare à celui d'un anesthésique de référence, généralement le chlorhydrate de cocaïne. Les variations individuelles des animaux pouvant être assez grandes, on étudie le produit sur l'œil d'un lapin et aussitôt après l'anesthésique de référence sur l'autre œil du même animal. A l'aide d'un groupe de 4 animaux on procède à 8 paires d'expériences convenablement espacées pour laisser reposer les lapins et éviter les phénomènes d'accoutumance. On obtient ainsi pour chacun des deux anesthésiques, 8 chiffres dont on fait la moyenne.

Si le chiffre moyen donné par le produit à mesurer n'est pas très voisin de celui de la solution de chlorhydrate de cocaïne étudiée en même temps, on « encadre » ce chiffre selon l'alternative suivante

1° le chiffre donné par la solution de chlorhydrate de cocaïne est plus fort. Sur le même groupe d'animaux on recommence huit expériences avec une solution de chlorhydrate de cocaïne de titre plus faible, pour donner un chiffre moyen inférieur au chiffre donné par le produit à mesurer ;

2° le chiffre donné par la solution de chlorhydrate de cocaïne est plus faible. On détermine avec une solution de titre plus fort, un chiffre moyen supérieur au chiffre donné par le produit à mesurer.

Dans les deux cas, le chiffre moyen d'excitations fourni par le produit à essayer est « encadré » par les deux chiffres des solutions de chlorhydrate de cocaïne plus forte et plus faible.

On obtient le titre de la solution de chlorhydrate de cocaïne

ayant le même pouvoir anesthésique que la solution du produit à essayer par la formule d'interpolation suivante :

Soit T le titre pour cent de la solution de chlorhydrate de cocaïne plus forte. Soit t le titre pour cent de la solution de chlorhydrate de cocaïne plus faible. Soit N le nombre d'excitations correspondant à T . Soit n le nombre d'excitations correspondant à t . Soit x le nombre d'excitations correspondant au produit étudié ; y , le titre pour cent de la solution de chlorhydrate de cocaïne équivalente est donné par

$$y = \frac{T(x - n) + t(N - x)}{(N - n)}$$

Ains nous avons trouvé sur 8 yeux, une moyenne de 575 excitations pour une solution anesthésique donnée (c'est le cas de la solution de chlorhydrate de quinine). Une solution de Chl. de cocaïne à 1 % nous a donné 640 comme chiffre moyen, celle à 0,50 % : 347.

Le titre pour cent de la solution de Chl. de cocaïne dont la valeur anesthésique est équivalente à celle de la solution de quinine expérimentée, est donné par :

$$\frac{1(575 - 347) + 0,50(640 - 557)}{(640 - 347)} = 0,88$$

Nous avons étudié par cette méthode, six de nos sels de quinine, les plus solubles dans l'eau, à la dose de 1 % en base, sur la même série de 4 lapins.

Pour économiser le chlorhydrate de cocaïne, nous n'avons pas « encadré » chaque sel, mais l'ensemble, en recherchant au cours des essais, le pouvoir anesthésique de l'alcaloïde de référence en solution à 0,50 et à 1 %.

Voici les chiffres moyens obtenus :

Chlorhydrate de cocaïne à 1 %	640
— — 0,50 %	347
Gluconate de quinine à 1 % en base.....	527
Quinate — —	562
Lactate — —	573
Chlorhydrate — —	575
Isobutyrate — —	615
Formiate — —	630

ce qui donne comme valeur anesthésique, le chlorhydrate de cocaïne étant pris comme unité

Gluconate de quinine	0,80
Quinate —	0,86
Lactate —	0,88
Chlorhydrate —	0,88
Isobutyrate —	0,95
Formiate —	0,97

Dans l'ensemble, l'anesthésie par la quinine paraît démarrer plus lentement et se dissiper moins brutalement que celle provoquée par la cocaïne. Elle est moins forte, le chlorhydrate de quinine, compté en sel, ayant une valeur anesthésique de 0,75 environ par rapport à celle du chlorhydrate de cocaïne.

Nous constatons que si les sels s'ordonnent sensiblement selon la série qui a été trouvée avec la cocaïne et le para-aminobenzoyldiéthylaminoéthanol, les différences sont beaucoup moins considérables. Rappelons, par exemple, que le lactate et le formiate de cocaïne ont été trouvés respectivement 2,5 fois plus faible et 2,5 fois plus fort que le chlorhydrate.

Ces différences existent cependant et ne sauraient être expliquées par le pH des solutions puisque celles d'isobutyrate, de formiate, de gluconate et de quinate ont sensiblement le même pH voisin de 6,5.

La quinine ne semble donc pas se laisser « polariser » aussi facilement par l'acide salifiant que les bases anesthésiques locales, vraisemblablement parce que son mode de perméation à travers la cornée ou d'action sur les terminaisons nerveuses sensibles est différent de celui des anesthésiques comme la cocaïne. L'étude des modifications des paramètres de l'excitabilité, qui nous permet une analyse plus fine du phénomène, va confirmer cette manière de voir.

2° Action des sels de quinine sur le nerf moteur.

Nous ne décrivons pas ici en détail la technique utilisée et les données théoriques qui la justifient. On les trouvera longuement exposées soit dans les mémoires en langue française (263) ou en langue allemande (264) que nous avons publiés avec J. RÉGNIER, soit dans notre thèse de Pharmacie (240).

Rappelons-en seulement les principes :

On sait que L. LAPICQUE a proposé, pour définir une excitabilité donnée, deux déterminations expérimentales, la rhéobase et la chronaxie. La rhéobase est une intensité de courant galvanique : c'est l'intensité juste nécessaire pour provoquer la réponse de l'élément excitable, pour un temps de passage relativement long. On l'exprime par un voltage sous résistance fixe.

La chronaxie est un temps de passage de courant galvanique : c'est le temps de passage juste nécessaire pour déclancher l'excitation avec une intensité double de la rhéobase.

Les recherches de L. LAPICQUE et de son école ont montré que si *théoriquement* les deux termes ont la même importance pour caractériser un certain état d'excitation, *pratiquement* la chronaxie est seule significative des propriétés intimes du tissu excitable, parce qu'elle est indépendante, dans de très larges limites, des conditions expérimentales.

C'est pourquoi J. RÉGNIER (244) a songé à utiliser les variations de ce paramètre sous l'influence des anesthésiques locaux pour connaître le pouvoir anesthésique relatif de ces substances. Il a ainsi mis au point sur les troncs nerveux moteur et sensitif, une méthode de mesure basée sur le fait suivant :

Sous l'influence de doses convenables de chlorhydrate de cocaïne, la chronaxie baisse jusqu'à un certain minimum ou plateau, puis remonte sans atteindre toutefois sa valeur primitive. La rhéobase suit une évolution à peu près inverse et plus tardive, c'est-à-dire montée puis plateau ou redescende. J. RÉGNIER a remarqué que dans certaines limites, la baisse maximum de chronaxie est d'autant plus grande que la concentration en toxique est plus forte. Il a donc proposé de tracer pour chaque corps étudié, une courbe concentration-action, en portant en abscisses les concentrations, en ordonnées les baisses maximales moyennes pour cent de la chronaxie. En comparant les diverses courbes de forme parabolique ainsi obtenues, il a pu exprimer le pouvoir anesthésique de nombreux corps de synthèse par rapport à celui de la cocaïne.

Depuis, cette méthode a été l'objet de critiques d'ordre pratique et d'ordre théorique, qui ont obligé à la perfectionner et à la compléter.

Du point de vue pratique, on lui a reproché (W. LAUBENDER) de n'être pas générale et de ne pouvoir s'appliquer par exemple à la percaïne. De longues recherches ont montré que cette ano-

malie était due plus à la substance étudiée qu'à la méthode ; KAHLSON et WERZ (137) sont arrivés à la même conclusion par une technique toute différente.

Du point de vue théorique on lui a reproché (J. SIVADJIAN) de mesurer non point une diminution d'excitabilité, mais une hyperexcitabilité prénarcotique. Cette objection a été réfutée en démontrant expérimentalement que l'excitabilité baisse dès les premières minutes d'action de l'anesthésique local.

Pour cela, il a fallu insister sur le fait, toujours affirmé par L. LAPICQUE, que le sens des variations de la chronaxie ne permet pas de préjuger du sens des modifications de l'excitabilité. Cette dernière a été exprimée en s'appuyant sur la conception de H. LASSALLE.

Cet auteur a proposé d'exprimer l'excitabilité d'un tissu, par l'inverse de l'énergie électrique nécessaire pour déclencher l'excitation. Supposant la résistance du tissu constante, il a pu exprimer l'énergie par $\alpha^2 \tau$, α étant le voltage rhéobasique et τ la chronaxie. L. LAPICQUE a admis que cette conception pouvait donner des résultats significatifs dans des conditions qu'il a précisées et qui sont justement celles des études pharmacodynamiques, telles que celles effectuées par J. RÉGNIER.

Mais ce dernier auteur avait observé avec H. CARDOT que sous l'action de certaines substances chimiques, la résistance électrique du tronc nerveux était modifiée. Avec J. RÉGNIER, il nous a donc paru plus correct et certainement plus précis de calculer l'énergie électrique réellement dépensée entre les électrodes pour déclencher l'excitation. Au moment de la mesure de la chronaxie τ , l'intensité étant égale au double de la rhéobase I , l'énergie est donnée, avec les courants rectangulaires, par $R \times (2 I)^2 \times \tau$, si R est la résistance du segment de nerf en expérience. Nous avons ainsi exprimé l'excitabilité par

$$\frac{1}{R \times (2 I)^2 \times \tau}$$

Pour connaître les divers termes de cette expression, nous avons complété le montage classique de détermination de la chronaxie par les courants rectangulaires et mis au point une technique qui a permis de mesurer simultanément le voltage et l'intensité rhéobasiques, la chronaxie et la résistance du nerf au courant galvanique. Nous obtenons cette dernière par subs-

titution, connaissant, grâce à un galvanomètre balistique, la quantité d'électricité passée dans le segment nerveux, dans des conditions qui ont été précisées et discutées. On connaît l'intensité rhéobasique soit par un calcul simple, soit par étalonnage du galvanomètre.

Dans son état actuel, la méthode (*) comporte donc les déterminations suivantes :

V : voltage rhéobasique en volts ;

I : intensité rhéobasique en microampères ;

τ : chronaxie en millièmes de seconde ;

R : résistance en milliers d'ohms du segment nerveux en expérience.

E : excitabilité exprimée par la formule

$$\frac{1}{R \times (2 I)^2 \times \tau} \times 10^3$$

La préparation sciatique-gastrocnémien de *Rana esculenta* étant disposée dans une cuve à excitation convenable, en présence de liquide physiologique, on procède à plusieurs mesures de 10 en 10 minutes jusqu'à ce que les différentes données expérimentales soient suffisamment voisines les unes des autres pour être prises comme valeurs de départ. On substitue alors au liquide physiologique qui baigne le nerf, une solution du produit à étudier dans ce même liquide (le muscle qui sert de test d'excitation restant en milieu physiologique pur), et on suit les variations des divers termes ci-dessus de 10 en 10 minutes, en remplissant la cuve du nerf de solution médicamenteuse pendant les intervalles des déterminations.

Pour comparer un produit à un autre, on fait agir simultanément, à l'aide de « cuves couplées » le produit à essayer sur un nerf d'une grenouille, le produit de référence étant appliqué sur l'autre nerf du même animal.

On calcule à l'aide de plusieurs expériences (au minimum 4) d'une part la baisse moyenne pour cent de l'expression d'excitabilité en 40 minutes, d'autre part la baisse moyenne maximum pour cent de chronaxie. La comparaison des courbes concentra-

(*) O. GAUDIN (101) a utilisé cette technique pour étudier l'action des pyrèthrines sur le nerf moteur. Il dit qu'elle permet de mesurer avec une grande précision les paramètres de l'excitabilité et la résistance du nerf isolé.

tion-action tracées en portant en abscisses les concentrations, en ordonnées les pourcentages de baisse de la chronaxie ou de l'excitabilité, permet de mesurer l'efficacité relative du produit à essayer, par rapport à celle du produit de référence.

Afin de connaître l'action de la quinine sur l'excitabilité du nerf moteur, interrogé comme nous l'indiquons, nous avons procédé à l'étude du chlorhydrate en solution à concentrations en base variables dans le liquide de Ringer, de pH 6,8.

Nous donnons ci-dessous deux expériences qui résument bien les faits observés pour les doses faibles et pour les doses fortes.

Action du chlorhydrate de quinine à 0,10 % en base en solution dans le liquide de Ringer de pH 6,8.

♀ : 25 gr. Température du laboratoire : 16°.
Sciaticque droit disséqué à 15 h. 25.

H	V	I	τ	R	E
16 h. 20.....	0,30	0,55	0,49	125	13,3
16 h. 30.....	0,30	0,55	0,49	125	13,3
16 h. 35.....	Chlorhydrate de quinine à 0,10 % en base.				
16 h. 45.....	0,43	0,56	0,34	180	13,0
16 h. 55.....	0,46	0,58	0,39	185	10,3
17 h. 05.....	0,47	0,57	0,36	195	11,0
17 h. 15.....	0,50	0,60	0,30	195	11,8
17 h. 25.....	0,52	0,62	0,28	195	11,8
17 h. 35.....	0,52	0,62	0,30	195	11,1
17 h. 45.....	0,50	0,60	0,36	195	9,6
17 h. 55.....	0,48	0,62	0,37	180	9,8

Action du chlorhydrate de quinine à 1 % en base en solution dans le liquide de Ringer de pH 6,8.

♂ : 39 gr. Température du laboratoire : 21°.
Sciaticque gauche isolé à 15 h. 15.

H	V	I	τ	R	E
16 h. 20.....	0,32	0,97	0,55	70	6,9
16 h. 30.....	0,29	0,88	0,55	70	8,4
16 h. 35.....	Chlorhydrate de quinine à 1 % en base.				
16 h. 45.....	0,50	1,51	0,44	70	3,5
16 h. 55.....	0,55	1,78	0,42	65	2,9
17 h. 05.....	0,55	1,78	0,38	65	2,9
17 h. 15.....	0,72	2,32	0,34	65	2,1
17 h. 25.....	0,72	2,48	0,40	60	1,7
17 h. 35.....	0,73	2,50	0,45	60	1,5
17 h. 45.....	0,80	2,96	0,46	55	1,1
17 h. 55.....	0,96	3,10	0,42	55	1,1

Nous observons, sous l'influence de l'alcaloïde, une augmentation du voltage et de l'intensité rhéobasiques jusqu'à un plateau, une diminution de chronaxie et d'excitabilité, suivie pour la chronaxie d'une remontée ; la résistance varie différemment suivant la concentration du liquide de Ringer en quinine. A 0,10 %, elle augmente nettement, ce qui confirme une supposition théorique de RENESCU et DOROGAN (272), à 1 %, elle baisse (*).

L'étude quantitative effectuée avec 4 doses, nous donne les résultats suivants (à partir de 25 essais) :

Concentration % en base	Moyenne des baisses maxima % de la chronaxie	Moyennes des baisses % de l'excitabilité en 40 minutes
0,10	34	28
0,20	33	36,5
0,50	35	53
1	43	85

Si la baisse de l'expression d'excitabilité s'accroît bien avec les doses, celle de la chronaxie paraît assez peu influencée par l'augmentation de concentration. On note toutefois, principalement avec les doses fortes, une action fort nette de la quinine sur les paramètres de l'excitabilité, ainsi que l'ont rapporté les auteurs ci-dessus.

Il paraît intéressant de rapprocher ces résultats de ceux que nous avons obtenus avec J. RÉGNIER dans l'étude des anesthésiques locaux.

Nous voyons que le mode d'action de la quinine s'apparente assez à celui d'un succédané de la cocaïne : la Percaïne. Nous avons signalé en effet que cet anesthésique local n'agit pas comme les autres sur le nerf moteur, principalement par son action qualitative sur la résistance du segment nerveux, et par son action quantitative sur la chronaxie. Il ne nous a pas été possible, avec cet anesthésique, d'établir de courbes concen-

(*) Cette baisse peut n'être pas due uniquement à une action sur la résistance propre du segment nerveux, mais aussi à l'augmentation de conductivité du liquide qui mouille le nerf (même après vidange de la cuve) par une concentration beaucoup plus forte en électrolytes, étant donné la quantité de sel alcaloïdique mise en jeu.

tration-action régulières avec la chronaxie, et la baisse d'excitabilité a suivi une loi qui n'a pas la forme exponentielle donnée par les anesthésiques du type cocaïne. Nous retrouvons des faits similaires avec la quinine. Or, la Percaïne, rappelons-le, est le chlorhydrate de la diéthyléthylène diamide de l'acide α -butyloxy-cinchoninique, c'est-à-dire qu'il entre dans sa constitution chimique comme dans celle de la quinine, un noyau quinoléique (*). Il est permis de supposer que dans l'un et l'autre cas, c'est la présence de ce noyau quinoléine, dont la toxicité est particulière pour le nerf ainsi que l'ont montré les expériences de DE CARO (59), qui provoque les anomalies observées.

Quoi qu'il en soit, l'action de la quinine sur le nerf moteur est quantitativement beaucoup moins importante que celle des anesthésiques locaux (**) et qualitativement différente. Les résultats inattendus que nous avons obtenus en étudiant trois de nos sels en milieu glucosé isotonique, et que nous allons présenter maintenant, confirment cette manière de voir.

Pour comparer l'activité des chlorhydrate, isobutyrate et quinate, sels de quinine choisis parmi ceux qui sont assez solubles pour être étudiés dans ces conditions, nous avons repris la technique qui nous a permis de mettre en évidence les différences d'activité des sels de para-aminobenzoyldiéthylaminoéthanol et de morphine sur le nerf. A savoir, étude en milieu glucosé isotonique exempt de sels d'acides forts susceptibles de déplacer les acides faibles des sels d'alcaloïdes expérimentés.

Rappelons brièvement les données essentielles du mode opératoire que nous avons mis au point :

La préparation sciatique-gastrocnémien est disséquée en l'humectant avec une solution de glucose dans l'eau distillée, isotonique au sang de Grenouille (44,7 pour mille, pH : 6,0). Aussitôt isolés, le nerf et le muscle sont installés dans la chambre d'excitation, le premier baignant dans la solution glucosée, le second reposant sur un coton imbibé de Ringer. La séparation du compartiment du nerf avec celui du muscle est faite avec un

(*) C'est d'ailleurs en s'appuyant sur les propriétés anesthésiques locales de la quinine que C. MIESCHER a été amené à la découverte de la Percaïne.

(**) Si nous comparons les chiffres moyens que nous présentons à ceux que nous avons obtenus dans les mêmes conditions d'appareillage et de technique avec le chlorhydrate de cocaïne, la quinine est au moins 10 fois plus faible.

mortier au kaolin-glucose isotonique traversé par le nerf. On laisse ainsi la préparation reposer une heure et on commence les mesures de 10 en 10 minutes. Nous avons montré que l'on obtient dans ces conditions une stabilisation suffisante de l'excitabilité et de ses paramètres, chronaxie et intensité rhéobasiques, pendant au moins 4 heures.

Lorsqu'on connaît les valeurs de départ, on substitue à la solution glucosée pure, une solution de sel de quinine à concentration convenable dans ce même véhicule.

Nous présentons ci-dessous deux expériences typiques qui résument bien les faits généralement observés aux doses que nous avons étudiées. L'une est un essai comparatif se rapportant à l'action du chlorhydrate et de l'isobutyrate de quinine à 0,50 % en base, l'autre est un essai comparatif se rapportant à l'action du chlorhydrate et du quinate de quinine à 0,50 % en base.

**Action du chlorhydrate et de l'isobutyrate de quinine
à 0,50 % en base,**

en solution dans l'eau glucosée isotonique de pH : 6,0

♀ : 50 gr. Dissection 15 h. 25. Température du laboratoire 17°.

Sciatique droit					
H	V	I	τ	R	E
17 h. 15.....	1,08	0,37	0,44	775	5,4
17 h. 25.....	1,24	0,37	0,46	825	4,8
17 h. 30.....	Chlorhydrate de quinine à 0,50 % en base.				
17 h. 40.....	0,64	0,34	0,57	450	8,4
17 h. 50.....	0,64	0,34	0,57	450	8,4
18 h.	0,60	0,33	0,59	450	8,7
18 h. 10.....	0,60	0,33	0,59	450	8,7
18 h. 20.....	0,57	0,33	0,59	425	9,1
18 h. 30.....	0,53	0,30	0,61	425	10,0
Sciatique gauche					
H	V	I	τ	R	E
17 h. 20.....	1,10	0,37	0,57	725	4,4
17 h. 30.....	1,20	0,37	0,57	800	4,0
17 h. 35.....	Isobutyrate de quinine à 0,50 % en base.				
17 h. 45.....	0,60	0,27	0,78	550	8,0
17 h. 55.....	0,60	0,27	0,78	550	8,0
18 h. 05.....	0,53	0,25	0,85	525	8,9
18 h. 15.....	0,53	0,25	0,86	525	8,8
18 h. 25.....	0,53	0,25	0,84	525	9,1
18 h. 35.....	0,53	0,25	0,84	525	9,1

Action du chlorhydrate et du quinate de quinine
à 0,50 % en base,
en solution dans l'eau glucosée isotonique de pH : 6,0.
 ♀ : 25 gr. Dissection 15 h. Température du laboratoire : 16°.

Sciatique droit					
H	V	I	τ	R	E
16 h.	0,90	0,23	0,58	975	8,3
16 h. 10.	0,95	0,23	0,56	1.000	8,5
16 h. 15.	Chlorhydrate de quinine à 0,50 % en base.				
16 h. 25.	0,40	0,22	0,75	440	15,5
16 h. 35.	0,40	0,22	0,74	440	15,7
16 h. 45.	0,44	0,24	0,70	440	14,1
16 h. 55.	0,42	0,23	0,72	440	14,9
17 h. 05.	0,40	0,22	0,73	440	16,0
17 h. 15.	0,40	0,22	0,73	440	16,0
Sciatique gauche					
H	V	I	τ	R	E
16 h. 05.	0,78	0,23	0,54	825	10,6
16 h. 15.	0,90	0,23	0,52	950	9,6
16 h. 20.	Quinate de quinine à 0,50 % en base.				
16 h. 30.	0,52	0,23	0,64	550	13,3
16 h. 40.	0,52	0,23	0,65	550	13,1
16 h. 50.	0,52	0,23	0,65	550	13,1
17 h.	0,50	0,23	0,66	525	13,7
17 h. 10.	0,48	0,23	0,64	500	14,6
17 h. 20.	0,43	0,23	0,68	450	15,3

Du point de vue qualitatif ces trois sels agissent de la même façon, à savoir :

Baisse immédiate du voltage rhéobasique et de la résistance (très grande au départ en raison de l'absence d'électrolytes).

Pas de modification ou baisse légère de l'intensité rhéobasique, montée de la chronaxie. Ces différentes variations ont une conséquence inattendue : l'augmentation de l'expression d'excitabilité. Cette élévation de l'excitabilité provient de la chute de résistance et du maintien ou de la baisse simultanée de l'intensité rhéobasique. On peut donc se demander si ce phénomène n'est pas dû, tout simplement, à l'introduction dans le milieu, d'un électrolyte. Or, il n'en est rien, l'augmentation d'excitabilité est bien le fait particulier de la quinine. En effet, dans des recher-

ches inédites que nous avons effectuées avec J. RÉGNIER, sur l'action des sels de sodium dans les mêmes conditions, nous avons obtenu des résultats qui sont bien illustrés par l'expérience que nous donnons ci-dessous et qui fut effectuée avec du chlorure de sodium en solution M/25 dans l'eau glucosée.

Action du chlorure de sodium

M/25 = 0,234 % en eau glucosée isotonique de pH = 6,0.

♀ : 43 gr. Sciatique gauche disséqué à 15 h.

Température du laboratoire : 18°.

H	V	I	τ	R	E
15 h. 50.....	0,76	0,33	0,37	565	11,0
16 h.	0,80	0,33	0,36	600	10,7
16 h. 05.....		Chlorure de sodium M/25.			
16 h. 15.....	0,64	1,02	0,37	145	4,4
16 h. 25.....	0,54	1,02	0,39	120	5,1
16 h. 35.....	0,50	0,98	0,40	115	5,6
16 h. 45.....	0,50	0,98	0,44	115	5,1
16 h. 55.....	0,44	0,87	0,48	115	6,0
17 h. 15.....	0,50	0,98	0,50	115	4,5
17 h. 45.....	0,50	0,98	0,47	115	4,8
18 h.	0,50	0,98	0,46	115	4,9

Nous voyons que dans ce cas, la chronaxie monte, le voltage rhéobasique et la résistance baissent comme avec les sels de quinine, mais l'intensité rhéobasique augmente assez pour provoquer une baisse de l'expression d'excitabilité.

Ces phénomènes traduisent un changement des conditions physicochimiques sans que soit atteinte apparemment l'intégrité du nerf qui garde sa capacité de réponse. Les différentes déterminations expérimentales reviennent, en effet, nous le savons, à des valeurs voisines de celles qu'elles ont en liquide de Ringer.

Pourquoi la quinine qui, en présence d'électrolytes fait baisser l'excitabilité du nerf, l'augmente-t-elle en solution non conductrice ? On sait le rôle très important que jouent les sels et particulièrement ceux de calcium dans les phénomènes d'excitation. Il apparaît certain, puisque leur absence change le sens de l'action de l'alcaloïde, que les électrolytes interviennent dans la fixation de la quinine sur la cellule nerveuse, rôle qu'ils ne semblent pas jouer avec les anesthésiques locaux du type de la cocaïne, puisque, avec ceux-ci, comme nous l'avons rapporté, les modifi-

cations de l'excitabilité se font dans le même sens en présence ou en l'absence d'électrolytes.

Les anomalies que nous avons rencontrées soit en liquide de Ringer, soit en eau glucosée isotonique, nous amènent à nous demander si la quinine, malgré l'effet anesthésique indéniable qu'elle exerce sur les terminaisons nerveuses, est bien un anesthésique local vrai, c'est-à-dire répondant aux exigences formulées depuis longtemps par E. FOURNEAU (90).

Sans nous arrêter plus longtemps devant ce difficile problème, qui nous entraînerait à des considérations théoriques qui n'auraient pas leur place ici, disons qu'il ne le semble pas, puisque son mode d'action sur l'excitabilité s'effectue selon des processus différents de ceux que l'on observe avec les anesthésiques locaux reconnus comme tels.

Nous avons procédé à l'étude quantitative de l'action des sels de quinine en les comparant deux à deux à différentes doses équivalentes en base.

La chronaxie ne présentant pas de variations phasiques comme en liquide de Ringer, nous avons calculé, par rapport aux valeurs de départ, le pourcentage d'augmentation de ce paramètre et de l'expression d'excitabilité après 40 minutes d'action pharmacodynamique. Nous avons en outre calculé le pourcentage de baisse de la résistance dans les mêmes conditions.

Les résultats que nous présentons ci-dessous ont été obtenus par la méthode des cuves couplées (240), chaque chiffre représente la moyenne de 4 essais.

Augmentation de chronaxie % en 40 minutes.

Concentration % en base quinine	Chlorhydrate	Isobutyrate	Chlorhydrate	Quinate
0,10	8	6	4	3
0,50	39	38	36	19
2	41	47	40	35

Augmentation d'excitabilité % en 40 minutes.

Concentration % en base quinine	Chlorhydrate	Isobutyrate	Chlorhydrate	Quinate
0,10	10	8	15	0
0,50	50	55	49	45
2	55	61	60	50

Diminution de résistance % en 40 minutes.

Concentration % en base quinine	Chlorhydrate	Isobutyrate	Chlorhydrate	Quinate
0,10	28	5	10	5
0,50	53	37	60	46
2	71	55	66	58

Nous constatons que l'action est d'autant plus prononcée que la concentration en base est plus forte, et qu'il existe de faibles différences quantitatives entre les sels. Il est possible de tracer des courbes concentration-action en portant en abscisses les concentrations et en ordonnées les pourcentages d'augmentation de la chronaxie ou de l'expression d'excitabilité. Ces courbes montrent que si l'on donne au chlorhydrate la valeur 1, on obtient approximativement pour l'isobutyrate : 1,1 et pour le quinate 0,7.

Quant à la chute de résistance, elle est plus prononcée pour le chlorhydrate que pour les deux autres sels, ce qui s'explique facilement par la conductivité des solutions en présence, la solution glucosée de chlorhydrate de quinine étant plus conductrice que les solutions des deux autres sels.

Bien que les différences ne soient pas, là encore, bien considérables, il apparaît toutefois, dans l'action de la quinine sur le nerf moteur une action favorisante de l'isobutyrate et empêchante du quinate par rapport à celle du chlorhydrate.

Nous retrouvons donc, il est vrai sous un tout autre aspect, et avec des différences bien moins marquées, un classement des trois sels de quinine semblable à celui que nous avons obtenu avec les sels de para-aminobenzoyldiéthylaminoéthanol et de morphine sur le même test pharmacodynamique et dans les mêmes conditions.

En conclusion, l'action de la quinine sur les terminaisons nerveuses et le tronc nerveux moteur ne peut pas être considérée comme une anesthésie locale vraie, cet alcaloïde n'agissant pas sur le nerf comme les anesthésiques du type de la cocaïne. En effet, alors qu'en liquide de Ringer, comme en eau glucosée isotonique, les anesthésiques locaux font baisser la chronaxie, l'expression d'excitabilité et la résistance du nerf, la quinine agit différemment. En liquide de Ringer elle diminue les valeurs

de ces trois déterminations expérimentales pour les doses fortes, mais la résistance augmente pour les doses faibles. En l'absence d'électrolytes, chronaxie et excitabilité augmentent ! L'action de la quinine sur le nerf est donc différente de celle des anesthésiques locaux. Elle est influencée par l'acide qui la salifie, la présence de fonctions alcools dans la constitution chimique de l'acide diminue l'activité, la présence d'une chaîne aliphatique l'augmente.

Toxicité des sels de quinine pour la Souris par voie buccale et par voie sous-cutanée.

Si la quinine apparaît être un poison très nocif pour le protoplasme cellulaire et les animaux inférieurs, elle se range, du point de vue de son action générale sur les animaux supérieurs, parmi les alcaloïdes les moins toxiques.

Le tableau clinique d'une *inloxication aiguë* par la quinine, chez l'Homme, du genre de celle rapportée par DESTOUCHES (62), est caractérisé par les symptômes suivants : nausées, parfois vomissements, vertiges, bourdonnements d'oreilles, surdité, amaurose, somnolence, pâleur, baisse de la température, cyanose, faiblesse du pouls, ralentissement de la respiration, rarement convulsions.

Les symptômes observés chez l'animal sont semblables ; on note toutefois une élévation de l'excitabilité des réflexes et des convulsions précédant la paralysie.

La mort survient par arrêt de la respiration puis du cœur, en diastole.

L'autopsie révèle des hémorragies dans tous les organes.

D'après les données de la littérature (rapportées par ROHDE (279)) les doses léthales pour les différents animaux de laboratoires sont les suivantes :

Chien : environ 0 gr. 18 par kilogramme en injection sous-cutanée (WITTMACK).

Lapin : dose minimum léthale : 0 gr. 80 *per os* (R. MUNT, K. SCHRÖDER) ; 1 gr. 50 dose sûrement léthale.

En injection sous-cutanée : 0 gr. 231 par kilogramme (BACHEM).

En injection intra-veineuse : 0 gr. 07 par kilogramme (MAUREL).

Cobaye : 0 gr. 293 par kilogramme en injection sous-cutanée (BACHEM).

Rat : 0 gr. 790 par kilogramme en injection sous-cutanée (SCHRÖDER).

Souris : 0 gr. 422 par kilogramme (BACHEM).

0 gr. 370 par kilogramme par voie sous-cutanée (HUNT).

Pigeon : 0 gr. 50 en injection intra-musculaire (MAUREL).

Grenouille : 0 gr. 40-0 gr. 50 par kilogramme en injection intra-musculaire, 1 gr. à 1 gr. 50 par kilogramme *per os* (MAUREL).

Le Rat apparaît donc comme l'un des animaux les plus résistants.

Cette toxicité de la quinine est accrue par la lumière ou les rayons ultra-violetes ainsi qu'il ressort des travaux de MACHT (188) sur la Grenouille, MACHT et TEAGRADEN (190) sur le Rat.

Elle dépend en partie de la vitesse de l'injection. D'après HACHTER et WEISS (118) la dose mortelle de chlorhydrate chez le Chat est d'environ 140 mgr. par kilogramme en injection intra-veineuse à la vitesse de 2 mgr. par kilogramme et par minute, et 100 mgr. à la vitesse de 5 mgr. par minute. Elle dépend aussi du véhicule, la quinine injectée en solution huileuse étant plus toxique que celle injectée en solution physiologique (MONZIOIS et CASTELS (208)).

Chez l'Homme, la dose mortelle n'est pas déterminée avec précision.

Un cas mortel a été observé après l'ingestion de 12 gr. de quinine et d'autre part un rétablissement a été constaté après 20 gr. (KUNKEL (160)) et même beaucoup plus (DESTOUCHES (62)).

CHANITÈS (43) a rapporté 14 cas de tentatives de suicide par la quinine, qu'il divise en trois groupes :

1^o doses moyennes : 5 à 10 gr., généralement peu graves ;

2^o de 10 à 15 gr. : amenant un état semi-comateux et une diminution considérable de la vision ;

3^o doses très fortes : supérieures à 20 gr., dont un cas a provoqué une cécité totale qui n'a disparu qu'après un mois et demi de traitement.

En somme, la quinine montre une toxicité peu élevée qui s'explique surtout par la grande résistance du cœur, la destruction partielle de l'alcaloïde par le foie et sa rapidité d'élimination par le rein.

L'étude de cette toxicité sur l'animal est susceptible de nous apporter des données utiles quant à la vitesse de pénétration de l'alcaloïde dans l'économie ou de son élimination, cette vitesse pouvant être freinée ou accélérée suivant l'acide salifiant ; MAC GILCHRIST (186) pense, en effet, que l'absorption est proportionnelle à la dose toxique et CARRISON et CORNWALL (41) ont observé que le bromhydrate de quinine est moins toxique que le chlorhydrate par injection intraveineuse au Mouton. C'est dans ce but que nous avons déterminé sur la Souris, la *dose moyenne léthale* de quelques-uns de nos sels, en appliquant les techniques et les modes de calcul relativement récents de doses toxiques, dont ne semble pas avoir bénéficié la quinine puisque son étude, de ce point de vue, est bien antérieure aux travaux de TREVAN (*).

Ces essais demandant un nombre assez considérable d'animaux, nous avons retenu cinq sels : chlorhydrate, citrate, gluconate, phénylpropionate, phénylbutyrate, dont nous avons déterminé la toxicité par voie buccale. Par voie sous-cutanée nous n'avons étudié que les deux sels assez solubles dans l'eau de cette série : chlorhydrate et gluconate (**).

Nous avons toujours expérimenté des souris mâles, adultes, pesant de 18 à 22 gr., soumises aux mêmes conditions pendant quelques jours et à un jeûne d'au moins 6 heures avant l'essai.

Pour l'administration par voie buccale, étant donnée la faible solubilité de certains de nos sels, nous avons préparé extemporanément des suspensions à 2-2,5-5 ou 10 % en base quinine anhydre, dans l'eau distillée en présence d'une petite quantité de gomme arabique (5 %) pour obtenir une suspension homogène. Ces liquides furent administrés à l'aide d'une petite canule de nickel, droite, à extrémité émoussée, adaptée à une seringue de

(*) Pour la détermination de la toxicité des substances chimiques sur l'animal, on consultera avec profit les mémoires de J. RÉGNIER, S. LAMBIN et E. SZOLLOSZ (260).

(**) Nous aurions désiré étudier également le quinate et l'isobutyrate mais la pénurie actuelle d'animaux nous en a empêché.

1 cc. graduée en 1/20^e de cc. Les volumes ingérés furent de l'ordre de 0 cc. 20 à 0 cc. 60.

Pour administrer le liquide on saisit la souris derrière la tête, le plus près possible des oreilles, et l'on maintient la tête légèrement renversée en arrière pour ne pas gêner la déglutition. La canule est dirigée au fond de la cavité buccale pour ne pas tomber dans la trachée, puis on enfonce dans l'œsophage. On pousse doucement le piston de la seringue.

L'injection par voie sous-cutanée est plus facile et fut pratiquée sous la peau du dos à l'aide d'une aiguille de 5/10^e de mm. sur 15 mm. de long à biseau court. Les volumes injectés furent de l'ordre de 0 cc. 40 à 1 cc. 10.

Aussitôt après l'administration les souris furent placées dans un grand cristalliseur où elles furent observées.

Nous exposerons en premier lieu la toxicité par voie buccale et en second lieu la toxicité par voie sous-cutanée.

1^o Toxicité par voie buccale.

Le tableau suivant résume les déterminations effectuées. Les chiffres indiquent, pour chaque dose d'un sel (exprimée répétons-le, en base quinine anhydre), le nombre d'animaux morts sur 10 animaux en expérience.

Un tel essai demande donc pour chaque sel de 50 à 100 souris sans compter les animaux sacrifiés pour les essais préliminaires qui renseignent sur la zone de toxicité.

Doses en grammes par kilogr.	0,25	0,35	0,50	0,75	1	1,25	1,35	1,50	1,75	1,85
Dose en mmg. pour une souris de 20 gr.	5	7	10	15	20	25	27	30	35	37
Chlorhydrate	0	2	5	9	10					
Citrate	0	1	4	8	10					
Phénylpropionate	0	2	6	8	9	9	10			
Phénylbutyrate . .	0	1	3	5	7	7	6	7	9	10
Gluconate	0	3	4	4	9	9	10			

Nous constatons ainsi que la limite inférieure ou « seuil » de toxicité est la même pour tous les sels étudiés. La limite supérieure est par contre variable, la zone de toxicité du chlorhydrate

et du citrate est moins étendue que celle du gluconate, du phénylpropionate et surtout du phénylbutyrate.

SYMPTÔMES TOXIQUES.

Chlorhydrate. — Aux doses faibles, 0 gr. 25 et 0 gr. 35 par kilogramme, une partie des souris ne présente pas de troubles visibles ; chez les autres, les premiers symptômes de l'intoxication apparaissent plus ou moins tôt, soit 7 à 8 minutes, soit plus d'une heure après l'ingestion. On note d'abord de l'agitation, suivie d'une prostration avec légère parésie du train postérieur. La respiration est difficile, saccadée, dyspnéique. Ces troubles disparaissent après quelques heures.

Une mort est survenue 10 minutes après l'ingestion, dans de brèves convulsions, et une autre 1 heure 1/2 après l'ingestion, moins brutalement.

A la dose moyenne de 0 gr. 50 par kilogramme la marche de l'intoxication est souvent plus rapide. La mort peut survenir à la suite de convulsions de 7 à 30 minutes après l'ingestion. La parésie du train postérieur qui s'observe souvent, s'efface assez lentement.

Aux doses fortes de 0 gr. 75 et 1 gr. par kilogramme l'intoxication est toujours brutale. La mort se produit en moins de 10 minutes, souvent 6 minutes seulement dans de très fortes convulsions.

Citrate. — Aux doses faibles de 0 gr. 25 et 0 gr. 35 par kilogramme une partie seulement des animaux présente des troubles. Dans les heures suivant l'ingestion, on observe une légère parésie du train postérieur, peu grave, qui disparaît progressivement. Une mort a été notée, survenue brusquement, 4 heures après l'absorption.

A la dose moyenne de 0 gr. 50 par kilogramme on observe une parésie du train postérieur, plus ou moins marquée 1 ou 2 h. après l'ingestion. Le retour à la normale s'effectue très lentement, ou bien la mort survient après 2 à 5 heures.

Une intoxication plus rapide a été observée : 20 minutes après l'ingestion sont apparus des étirements convulsifs des pattes, puis de la prostration et une asphyxie progressive avec cyanose

des extrémités. Finalement l'animal est mort 45 minutes après l'ingestion dans de brèves convulsions.

Aux doses fortes de 0 gr. 75 et 1 gr. par kilogramme les premiers symptômes apparaissent 30 à 45 minutes après l'ingestion, comme ceux décrits précédemment. Mais la mort survient 50 minutes au moins, 2 heures au plus après l'introduction dans l'organisme.

L'intoxication par le citrate de quinine, bien que se manifestant de la même façon, est donc plus lente que par le chlorhydrate

Gluconate. Phénylpropionate. Phénylbutyrate. — Les symptômes observés sont les mêmes pour ces trois sels et identiques d'ailleurs à ceux notés avec le chlorhydrate. La vitesse d'intoxication est la même.

Aux doses faibles de 0 gr. 25 et 0 gr. 35 par kilogramme les troubles ne sont pas constants, ils se présentent seulement chez quelques souris, 30 à 40 minutes après l'ingestion et sont rarement mortels.

Aux doses moyennes de 0 gr. 50 et 0 gr. 75 par kilogramme les symptômes apparaissent plus rapidement, de 10 à 45 minutes après l'absorption ; tantôt ils persistent pendant quelques heures et le rétablissement s'effectue lentement ; tantôt ils s'aggravent et amènent la mort en une heure environ. A ces doses on note des morts en moins de 10 minutes.

Aux doses fortes de 1 gr. par kilogramme et au-dessus, sauf quelques exceptions, l'intoxication est rapide et brutale et la mort survient en moins de 10 minutes.

2° Toxicité par voie sous-cutanée.

Les déterminations effectuées avec le chlorhydrate et le gluconate sont résumées dans le tableau suivant où chaque chiffre indique le nombre de morts sur un groupe de 10 animaux.

Dose en grammes par kilog.	0,20	0,25	0,30	0,35	0,40	0,45
Dose en mmg. par souris de 20 gr.	4	5	6	7	8	9
Chlorhydrate	0	1	2	7	8	10
Gluconate.....	0	0	4	5	6	10

Bien que le seuil soit un peu plus élevé pour le gluconate, la toxicité des deux sels apparaît sensiblement la même.

SYMPTÔMES TOXIQUES.

Les observations sont communes aux deux sels.

Aux doses faibles de 0 gr. 20 et 0 gr. 25 par kilogramme les troubles ne sont pas constants. Chez une partie seulement des animaux on observe $3/4$ d'heure à 1 heure après l'injection une légère parésie des pattes postérieures, de la prostration et de la dyspnée. En général, les symptômes visibles persistent pendant 4 à 5 heures et disparaissent progressivement ; le retour à la normale s'effectue après 24 heures. Une mort par asphyxie a été notée 2 h. $1/2$ après l'injection.

Aux doses moyennes de 0 gr. 30 et 0 gr. 35 par kilogramme les mêmes symptômes apparaissent $1/2$ heure à 1 heure après l'injection, progressivement ou brutalement. La mort peut survenir après 1 h. $1/2$ ou 2 heures et même beaucoup plus tard. L'asphyxie est progressive et la cyanose très visible.

Aux doses fortes de 0 gr. 40 et 0 gr. 45 par kilogramme la marche de l'intoxication est la même. Elle débute après 30 à 45 minutes, mais l'asphyxie est très prononcée et provoque la mort en une ou plusieurs heures.

Remarque. — Chez un certain nombre de souris ayant bien supporté l'administration sous-cutanée de doses subtoxiques de chlorhydrate de quinine, une escarre est apparue, dans les jours suivants, au lieu de l'injection. Nous n'avons pas observé d'escarre à la suite de l'injection de gluconate.

Conclusion. — Les symptômes observés dans l'intoxication par voie sous-cutanée par le chlorhydrate et par le gluconate de quinine sont semblables à ceux observés dans l'intoxication par voie buccale avec ces mêmes sels et quelques autres.

Mais la marche de l'intoxication est sensiblement plus lente par voie hypodermique. C'est là un fait classique, l'élimination de l'alcaloïde étant plus lente lorsqu'il est introduit dans l'économie par cette voie, probablement parce que la quinine se fixe sur le tissu sous-cutané et musculaire.

D'une façon générale l'action toxique des sels de quinine, observée sur la Souris, consiste essentiellement en une paralysie

motrice, observable sur les membres postérieurs, et en symptômes asphyxiques. Ces troubles relèvent de l'action paralysante de la quinine qui s'exerce, à dose élevée, sur le sympathique et le système nerveux central.

Interprétation des résultats. — Nous avons calculé pour les sels de quinine étudiés, la dose léthale moyenne (arithmétique), c'est-à-dire celle qui tue 50 % des animaux d'essai, en appliquant la formule de BEHRENS et KÄRBER (18) qui a été particulièrement indiquée dans le mémoire de J. RÉGNIER, S. LAMBIN et E. SZOLLOSY (260) et depuis employée systématiquement au laboratoire de J. RÉGNIER.

Cette formule a l'avantage de pouvoir être appliquée :

1° quand les intervalles des doses sont irréguliers ;

2° quand on observe des oscillations dans le pourcentage des mortalités.

Elle s'exprime par :

$$Dm = Df - \frac{\Sigma(a \times b)}{n}$$

expression dans laquelle

Dm = dose léthale moyenne cherchée.

Df = dose à laquelle tous les animaux ont succombé
(dose minimum toujours mortelle).

n = moyenne du nombre des animaux utilisés à chaque dose.

a = différence entre deux doses successives.

b = moyenne de la somme des morts à deux doses successives.

Application pour le chlorhydrate de quinine par voie buccale.

Dose en base quinine.....	0,25	0,35	0,50	0,75	1
Survies	10	8	5	1	0
Morts	0	2	5	9	10
a	0,10	0,15	0,25	0,25	
b	1	3,5	7	9,5	
$b \times a$	0,10	0,525	1,75	2,375	
$\Sigma (b \times a)$		4,75			

$n = 10$ $Df = 1 \text{ gr.}$

$$Dm = 1 - \frac{4,75}{10} = 0 \text{ gr. 525 en base quinine anhydre.}$$

Les mêmes calculs effectués sur tous nos résultats avec les sels de quinine nous ont donné finalement les doses léthales moyennes suivantes :

Dose léthale moyenne (Behrens et Kärber) en base quinine.

	Voie buccale	Voie sous-cutanée
Chlorhydrate	0 gr. 525	0 gr. 335
Citrate	0 gr. 58	
Gluconate	0 gr. 70	0 gr. 35
Phénylpropionate	0 gr. 57	
Phénylbutyrate	0 gr. 93	

Nous voyons ainsi que l'ordre de toxicité décroissant des sels de quinine, étudiés par voie buccale, est le suivant : chlorhydrate, phénylpropionate, citrate, gluconate et phénylbutyrate.

Le gluconate et le phénylbutyrate sont nettement moins toxiques que les trois autres.

Par voie sous-cutanée, si l'on considère la dose léthale moyenne et la dose seuil, le gluconate apparaît un peu moins toxique que le chlorhydrate.

Ainsi, la toxicité des sels de quinine, même introduits dans l'économie, peut dépendre de l'acide qui salifie l'alcaloïde. Les différences de toxicité doivent être attribuées soit à la rapidité de pénétration, soit à celle d'élimination des divers sels. En nous appuyant sur l'ensemble des données pharmacodynamiques mises en évidence sur les autres tests, on peut penser que la faible toxicité du gluconate est liée à son absorption plus lente, celle du phénylbutyrate à son élimination plus rapide.

Nous allons, dans les expériences qui vont suivre, sur l'élimination urinaire, examiner l'un des aspects de ce problème.

Élimination urinaire de la quinine chez le Lapin.

En partie détruite dans l'organisme, la quinine est éliminée surtout par le rein, mais on la retrouve dans les larmes, la salive, le mucus bronchique, le lait, la bile, les matières fécales, la sérosité des hydropiques et dans à peu près toutes les humeurs de l'organisme.

La question de son élimination urinaire, après administration par des voies diverses, a fait l'objet de recherches multiples, les plus nombreuses effectuées en clinique. Les travaux de SCHMITZ (293) GIEMSA et SCHAUMANN (108), NISHI (229), KATZ (139), etc... ont montré, contrairement aux conclusions anciennes de KERNER (143), que la quinine s'élimine bien telle quelle par cette voie et non sous forme d'un produit de décomposition. Il n'y aurait tout au plus que le tiers de la quantité administrée qui serait éliminé (*), le reste se fixant sur certains organes électifs, tels que les centres nerveux, le foie, la rate, les glandes endocrines, ou étant détruit.

De l'abondante littérature concernant cette question et dont on trouvera les éléments chez ROHDE (279), HARTMANN et ZILA (119), TCHAPKEWITCH (312), KAISER (138) entre autres, nous ne retiendrons que les données intéressant directement notre étude.

C'est après administration par voie intraveineuse que la quinine est éliminée le plus rapidement, ainsi qu'il ressort des observations de JEANSELME et DALIMIER (131), puis viennent ensuite la voie intramusculaire, la voie sous-cutanée, la voie gastrique et la voie rectale. Le maximum d'élimination a lieu entre 3 et 6 heures après l'introduction de la quinine dans l'organisme

(*) Les chiffres oscillent entre 3 et 42 %, mais varient évidemment avec l'espèce animale, la voie d'administration, l'état physique du sel, la quantité introduite, etc...

Il est bien évident que lorsque les sels sont administrés *per os* et non en solution, leur solubilité joue un grand rôle dans la rapidité de leur absorption et par suite dans celle de leur élimination. Le tableau ci-dessous, emprunté aux expériences classiques de KERNER (143), où nous n'avons retenu que les sels basiques, donne un ordre très voisin des solubilités respectives. Ajoutons toutefois, que les quantités administrées n'étant pas équivalentes en base, il est probable que la série observée est aussi fonction des quantités de quinine réellement mises en œuvre.

Sels expérimentés	Élimination urinaire	
	début après	fin après
Chlorhydrate	15 minutes	48 heures
Carbonate	15 —	48 —
Acétate	30 —	48 —
Citrate	30 —	60 —
Sulfate	45 —	60 —
Tannate	3 heures	72 —

KLEINE (145) a également constaté que l'élimination est plus rapide après administration de chlorhydrate qu'après sulfate ou tannate, il rapporte néanmoins que MARIANI a signalé une élimination plus forte dans le cas des sels difficilement solubles. Mais aucun des auteurs que nous avons consultés, n'a tenu compte du problème qui nous intéresse ici, et pour lequel il est nécessaire d'introduire les sels dans l'organisme, dans un état physique aussi voisin que possible et en quantités correspondantes en alcaloïde. Il importe en outre, d'opérer sur des animaux semblables (espèce, poids, etc...), restant en bon état physiologique au cours d'expériences répétées, et alimentés de façon analogue.

C'est pourquoi nous avons étudié l'influence de l'acide qui salifie la quinine sur l'élimination urinaire de cet alcaloïde, chez le Lapin, en administrant les sels en solutions aqueuses, par voie intraveineuse.

La dose de 0 gr. 01 de quinine base à laquelle nous nous sommes arrêté, après quelques tâtonnements, est suffisante pour permettre une bonne observation du phénomène à l'aide d'une méthode de dosage convenable, et trop peu élevée pour provoquer une irritation rénale susceptible de fausser les expériences.

Il était nécessaire aussi de ne pas injecter de trop grandes quantités de liquide dans le système circulatoire. Nous avons donc retenu cinq de nos sels les plus solubles et préparé des ampoules de 1 cc. de chlorhydrate, quinate, lactate, isobutyrate et formiate à 1 % en base, que nous avons stérilisées à l'autoclave à 110° pendant 1/4 d'heure.

Voici le protocole d'une expérience :

Le Lapin, mâle, immobilisé sur le dos à l'aide d'un appareil à contention, reçoit par sonde œsophagienne 50 cc. d'eau pour faciliter la diurèse. Il est sondé avec une petite sonde « Gaillard » n° 10 ou 11, stérilisée à l'eau bouillante et lubrifiée avec de l'huile de vaseline stérile. On vide la vessie et laisse la sonde à demeure. On prend la température rectale à l'aide d'un thermomètre spécial pour petits animaux.

Un quart d'heure exactement après l'ingestion d'eau, on injecte, dans la veine marginale de l'oreille, 1 cc. de la solution du sel alcaloïdique à 1 % en base, soit 0 gr. 01 de quinine.

On prélève l'urine et note la température après 1/2 heure, 1 heure, 2 heures, 4 heures, 6 heures et 8 heures suivant l'injection. 24 heures après, on procède à un nouveau sondage pour vérifier la présence ou l'absence de quinine.

On procède au dosage, par la méthode de PRUDHOMME (239), de la façon suivante :

Ce dosage s'effectue sur 10 cc. d'urine. Lorsque la quantité émise est inférieure à ce volume, on complète avec de l'eau distillée.

On prépare un tube témoin avec l'urine prélevée au cours du sondage préalable à l'injection. A 9 cc. d'urine, diluée ou non, on ajoute 1 cc. d'une solution à 0,01 % en base de chlorhydrate de quinine, soit 1/10 de mgr. de quinine.

On procède ensuite, pour tous les tubes, complétés ou non, à 10 cc. si nécessaire, y compris le tube témoin, aux opérations qui suivent.:

On défèque par addition de 5 cc. d'une solution d'acétate neutre de plomb à 10 %. On filtre. A 12 cc. du filtrat on ajoute V gouttes d'acide sulfurique concentré pour éliminer l'excès de plomb. On agite et filtre. On additionne 9 cc. du filtrat de II gouttes de teinture de tournesol et neutralise avec quelques

gouttes de lessive de soude au 1/3 jusqu'à coloration lilas (*). On procède ensuite comme nous l'avons indiqué au début de ce travail : addition de 2 cc. de tampon de Sörensen (afin d'être dans des limites de pH aussi voisines que possible), puis de IV gouttes d'éosine à 2 %. On mêle. On verse 3 cc. de chloroforme. On agite et laisse reposer 4 heures.

On prélève le liquide surnageant le chloroforme. Celui-ci est coloré en rose plus ou moins intense selon la quantité de quinine présente dans la prise d'essai, en jaune pâle lorsqu'il n'y a pas d'alcaloïde décelable par ce procédé (quantité inférieure à 0 mgr. 005). On passe au colorimètre en comparant les solutions chloroformiques du complexe quinine-éosine correspondant à l'élimination de l'alcaloïde, avec la solution chloroformique correspondant au tube témoin.

A l'aide des quantités de quinine trouvées, pour des volumes d'urine inférieurs ou égaux à 10 cc., on calcule la quantité de quinine éliminée pour le volume total d'urine recueillie. La sonde restant à demeure, nous n'avons suivi l'élimination urinaire que durant 8 heures pour ne pas fatiguer outre mesure les animaux.

L'expérience ci-dessous montre un essai type effectué avec le chlorhydrate de quinine :

Lapin B ; poids : 2 kg. 700.

Temps		Volume d'urine recueillie	Température rectale
9 h. 30	50 cc. d'eau par voie œsophagienne et sondage vésical.		
9 h. 45	Sondage tube témoin. Injection intraveineuse de 1 cc. de chlorhydrate de quinine à 1 % en base.	1 cc.	38°5
10 h. 15	Sondage tube n° 1	1 cc.	37°2
10 h. 45	Sondage tube n° 2	2 cc.	36°7
11 h. 45	Sondage tube n° 3	10 cc.	37°2
13 h. 45	Sondage tube n° 4	53 cc.	37°3
15 h. 45	Sondage tube n° 5	10 cc.	37°6
17 h. 45	Sondage tube n° 6	5 cc.	38°1
	Volume d'urine émise en 8 heures	81 cc.	
lendemain			
9 h. 30	Sondage tube n° 7	12 cc.	38°6

(*) Cette opération est très importante et doit être effectuée exactement sous peine d'erreurs dans le dosage.

Numéros des tubes	Quantité de quinine base en mgr. pour un volume ≤ 10 cc.	Quantité de quinine base en mgr. éliminée pour le volume recueilli
1	0,02	0,02
2	0,11	0,11
3	0,12	0,12
4	0,08	0,42
5	0,11	0,11
6	0,09	0,09
7	0	0
	Quinine base éliminée en 8 heures	0,87

Nous constatons les faits suivants : maximum d'élimination entre la 2^e et la 4^e heure, absence totale de quinine dans les urines 24 heures après l'injection et quantité d'alcaloïde éliminée en 8 heures égale à environ 10 % de la dose injectée. Tout ceci est en bon accord avec les données classiques.

La température normale est abaissée et passe par un minimum vers la 1^{re} ou 2^e heure. C'est ce que nous avons observé pour tous les sels, avec quelques variantes comme nous allons le voir.

Nous avons étudié nos cinq sels sur cinq lapins de poids voisins (2 kgr. 500 à 3 kgr.), chaque animal recevant chacun des sels à une semaine d'intervalle.

Nous allons examiner maintenant les résultats moyens auxquels nous sommes parvenu.

1^o *Élimination urinaire de la quinine.*

Nous présentons dans le tableau ci-dessous, les quantités moyennes de quinine éliminées en fonction du temps. Chaque chiffre représente la moyenne des cinq expériences effectuées sur les cinq lapins.

Temps après injection	Chlorhydrate en mgr.	Isobutyrate en mgr.	Quinate en mgr.	Lactate en mgr.	Formiate en mgr.
1/2 heure	0,04	0,05	0,03	0,03	0,01
1 heure	0,12	0,12	0,13	0,15	0,04
2 heures	0,19	0,29	0,31	0,31	0,26
4 heures	0,27	0,45	0,32	0,34	0,38
6 heures	0,10	0,14	0,09	0,12	0,14
8 heures	0,07	0,08	0,07	0,08	0,07
TOTAL	0,79	1,13	0,95	1,03	0,90

Pour tous les sels le maximum d'élimination se place entre la 2^e et la 4^e heure, mais il est plus ou moins élevé selon l'acide salifiant. C'est ainsi qu'il est plus fort pour l'isobutyrate, le formiate, puis viennent le lactate, le quinate et le chlorhydrate. La quantité de quinine éliminée en 8 heures est nettement plus forte pour l'isobutyrate et plus faible pour le chlorhydrate. Ces différences étaient assez régulièrement visibles pour la série de sels donnée par chaque animal. 24 heures après l'injection et pour tous les sels, il n'y a plus de quinine dans les urines.

2^o Action sur la diurèse.

Le tableau ci-dessous montre que la diurèse passe par un maximum entre la 2^e heure et la 4^e heure qui correspond au moment de forte élimination de l'alcaloïde. Les différences entre les sels ne sont pas suffisamment nettes pour que l'on puisse en faire état, toutefois on peut reconnaître une action diurétique plus marquée de l'isobutyrate qui peut expliquer l'élimination plus intense de la quinine sous l'influence de ce sel, bien que la même cause ne puisse faire comprendre la plus faible élimination d'alcaloïde après injection de chlorhydrate.

Temps après l'injection	Chlorhy- drate	Isobutyrate	Quinate	Lactate	Formiate
1/2 heure.....	5 cc.	2 cc.	1 cc.	2 cc.	1 cc.
1 heure.....	6	4	4	4	1
2 heures.....	10	21	20	20	6
4 heures.....	33	37	36	25	33
6 heures.....	19	15	10	10	17
8 heures.....	12	11	8	7	6
TOTAL.....	85	90	79	68	64

Mais s'agit-il bien d'une action diurétique ?

Nous avons, pour nous en assurer, suivi la diurèse de nos cinq lapins pendant 8 heures après l'injection intraveineuse de 1 cc. d'eau distillée stérile et administration de 50 cc. d'eau dans l'estomac, 1/4 d'heure avant. Les animaux se trouvaient ainsi placés dans les mêmes conditions d'expérience, à l'exception de la mise en œuvre du sel de quinine. Ajoutons que leur régime alimentaire était le même et que les essais furent poursuivis, comme les précédents, entre 9 heures du matin et 18 heures.

Le volume d'urine émise en 8 heures fut en moyenne de 20 cc.

La quinine favorise donc bien la diurèse à cette dose de 0 gr. 01. Ceci s'accorde avec les faits relatés par DESTOUCHES (62) pour les doses faibles et qui s'expliquent, selon lui, aussi bien par une action stimulante possible de la quinine sur les éléments anatomiques du filtre rénal, que par son action hypertensive. Rappelons toutefois que pour des doses plus fortes on a souvent observé des phénomènes d'oligurie. S. H. AVERBUCK (10) a pu ainsi observer une inhibition de la diurèse chez le Lapin, pouvant atteindre 80 %, après injection sous-cutanée de 0 gr. 10 de chlorhydrate neutre de quinine.

3° Action sur la température normale.

Nous avons suivi l'évolution de la température rectale des animaux en expérience et constaté que, sous l'influence de la quinine, la température baisse, passe par un minimum vers la 1^{re} ou 2^e heure, puis remonte vers sa valeur de départ qu'elle égale ou dépasse un peu au bout de 8 heures.

Nous avons pour chaque expérience, calculé le pourcentage de baisse maximum de la température à partir de sa valeur de départ et fait la moyenne pour chaque sel. Le tableau ci-dessous montre les résultats obtenus.

	Chlorhydrate	Isobutyrate	Quinate	Lactate	Formiate
Baisse maximum pour cent de la température.....	2,9	3,4	3,2	3,1	3,5

Mais dans les expériences à blanc, c'est-à-dire celles que nous avons effectuées pour connaître la diurèse normale, nous avons pris la température rectale des animaux et constaté, là aussi, qu'elle baisse, mais moins fortement qu'avec la quinine, et qu'elle passe par un minimum qui apparaît après la 2^e heure. L'expérience suivante montre bien le phénomène.

Temps	Volume d'urine émise	Température rectale
9 h. 45	50 cc. eau par sonde cœso-phagienne sondage vésical	
10 h.	injection intraveineuse, 1 cc. d'eau distillée stérile	
10 h. 30	1 cc.	38°1
10 h. 30	1 cc.	37°9
11 h.	3 cc.	37°5
12 h.	3 cc.	37°3
14 h.	5 cc.	37°3
16 h.	2 cc.	37°8
18 h.	2 cc.	37°8
	Volume d'urine émise en 8 heures : 16 cc.	Baisse maximum de la température : 2,1 %

Il s'agit là sans doute d'une hypothermie passagère provoquée par le repos forcé et le jeûne auquel sont soumis les animaux pendant l'expérience. Nous avons calculé pour les cinq lapins le pourcentage de baisse maximum de la température à partir de la valeur de départ. Nous avons trouvé une baisse maximum moyenne de 2 %.

Il y a donc bien action de la quinine sur la température normale, bien que les données classiques (ZUNZ (339)) qui s'appuient en presque totalité sur l'expérimentation humaine, ne reconnaissent d'action antipyrétique à cette drogue que dans les cas de fièvre. Là encore, les différences entre les sels ne sont pas particulièrement tranchées, nous constatons toutefois que l'isobutyrate et le formiate semblent nettement plus actifs, de ce point de vue, que le chlorhydrate.

De cette étude sur l'élimination urinaire de la quinine chez le Lapin, retenons principalement les faits qui nous apparaissent les plus nets à savoir :

Maximum d'élimination de l'alcaloïde entre la 2^e et la 4^e heure, maximum plus élevé pour l'isobutyrate, moins élevé pour le chlorhydrate, quantité d'alcaloïde éliminé en 8 heures plus forte avec l'isobutyrate qu'avec le chlorhydrate.

Ces faits nous paraissent s'accorder avec l'hypothèse que nous formulions à propos de la toxicité des sels de quinine et dans laquelle nous attribuions la faible toxicité du phénylbutyrate (sel du type dit « favorable ») à son élimination plus rapide ou

plus intense. Ils ne peuvent être invoqués pour expliquer la faible toxicité du gluconate (sel du type dit « défavorable »). Force est donc, ainsi que nous le supposions, d'attribuer cette dernière à l'absorption plus lente de ce sel.

Par contre, nos résultats font bien comprendre la toxicité relativement forte du chlorhydrate qui, éliminé plus lentement, se montre plus toxique.

Action sur la streptococcie et la pneumococcie expérimentales de la Souris.

D'après MORGENROTH (210) la quinine n'a que de faibles propriétés antiseptiques. Il a montré, avec divers collaborateurs, qu'on les accentue beaucoup en remplaçant la chaîne latérale vinylique par divers groupements alcoylés. ROHDE (279) rapporte cependant nombre de recherches qui montrent que l'action antiseptique de la quinine est marquée ; d'après BROWN (33), elle serait plus nette pour la quinine base que pour ses sels. MAC DONALD (185) l'estime à la moitié de celle du phénol. Cette propriété a d'ailleurs trouvé une application dans le traitement des plaies atteintes de gangrène gazeuse (DESTOUCHES (62)).

L'action antiinfectieuse a été mise en évidence, selon ROHDE (279), par BINZ et MANASSEIN dans divers cas de « fièvre putride », mais, toujours selon le même auteur, les recherches systématiques n'ont été entreprises que par KÜDICKE, FINKELSTEIN et KOPANIARO. Plus près de nous, MORGENROTH (212), WRIGHT (336), NEUFELD (217), MOON (209), et dans ces dernières années GUNDEL et SEITZ (117), KEMKES (141), VINCKE et NEVER (327) entre autres, ont expérimenté dans ce sens. Les recherches récentes ont été surtout dirigées sur la streptococcie et la pneumococcie expérimentales de la Souris.

C'est sur cet animal que nous avons repris, à notre tour, l'étude de l'action de la quinine sur les infections expérimentales à Streptocoque et à Pneumocoque pour étudier plus particulièrement l'influence de l'acide qui salifie l'alcaloïde.

Nous présenterons en premier lieu, les résultats de nos essais effectués en utilisant le Streptocoque comme agent pathogène, en second lieu les résultats obtenus avec les animaux infectés par le Pneumocoque. Les doses des sels de quinine s'entendent en base

anhydre. Elles ont été choisies de façon à être assez éloignées des doses toxiques, seul cas où la recherche peut avoir un sens. Il faut noter en effet, qu'avec les sels de quinine couramment employés, les résultats positifs de la littérature ont été obtenus avec des doses subtoxiques.

1^o *Streptococcie expérimentale.*

Nous avons utilisé une souche nommée *Streptocoque M*, conservée en bouillon gélatiné et au frais. Cette souche nous a servi à préparer une culture de 20 heures en bouillon ascite, que nous avons, après dilution convenable, inoculée aux animaux par voie intra-péritonéale.

Dans les tableaux qui suivent, les animaux vivants sont notés : v., les animaux tués : +.

a) Contrôle de la virulence de la souche.

Dilution du bouillon de culture	Inoculation intra- péritonéale	Jour de l'infection	24 h.	36 h.	48 h.	60 h.	3 j.	6 j.
1/100 ^e	0 cc. 3	v	v	+				
		v	v	+				
		v	v	+				
		v	v	v	+			
		v	v	v	+			
		v	v	v	+			
1/1.000 ^e	0 cc. 3	v	v	v	+			
		v	v	v	+			
		v	v	v	v	+		
		v	v	v	v	+		
		v	v	v	v	v	+	
		v	v	v	v	v	+	
1/10.000 ^e	0 cc. 3	v	v	v	+			
		v	v	v	+			
		v	v	v	+			
		v	v	v	v	+		
		v	v	v	v	+		
		v	v	v	v	v	+	
1/100.000 ^e	0 cc. 3	v	v	v	+			
		v	v	v	v	+		
		v	v	v	v	+		
		v	v	v	v	v	+	
		v	v	v	v	v	v	+
		v	v	v	v	v	v	v

b) Le tableau suivant montre un essai de traitement des animaux infectés (au moyen de la dilution au 1/1.000^e du bouillon de culture), par des quantités croissantes d'une solution à 1 % en base de chlorhydrate de quinine administrée *per os*. Le résultat est négatif.

Groupement des animaux	Traitement buccal	Jour de l'infection	24 h.	48 h.	60 h.
I) <i>Témoins</i>	nul	v v v v v v v v v v	+ + v v v v v v v v	 + + + + + + + v	 +
II) <i>Chlorhydrate de quinine</i>	1 mgr., 1 h. 1/2 après infection. 1 mgr. le lende- main.	v v v v v v v v v v	v v v v v v v v v v	+ + + + + + + + + v	 +
III) <i>Chlorhydrate de quinine</i>	2 mgr., 1 h. 1/2 après infection. 1 mgr. le lende- main.	v v v v v v v v v v	v v v v v v v v v v	+ + + + + + + + + v	 +
IV) <i>Chlorhydrate de quinine</i>	5 mgr., 1 h. 1/2 après infection.	v v v v v v v v v	+ v v v v v v v v	 + + + + + + + v	 +

c) Le traitement par voie sous-cutanée a freiné le début de l'infection sans l'empêcher. Le tableau ci-dessous montre en outre, que les résultats obtenus avec le chlorhydrate et le gluconate sont semblables. Les souris ont été infectées comme les précédentes avec la dilution au 1/1.000^e du bouillon de culture. Les solutions des sels de quinine étaient à 0,20 % en base.

Groupement des animaux	Traitement par voie sous-cutanée	Jour de l'infect.	24 h.	30 h.	48 h.	3 j.
I) <i>Témoins</i>	nul	v v v v v v	v v v v v v	+ + + v v v	 + + v	 +
II) <i>Chlorhydrate de quinine</i>	1 mgr., 1 h. avant l'infection. 1 mgr., 24 h. après.	v v v v v	v v v v v	+ v v v v	 + + + +	 +
III) <i>Chlorhydrate de quinine</i>	2 mgr., 1 h. avant l'infection. 1 mgr., 24 h. après.	v v v v v	v v v v v	v v v v v	+ + + + v	 +
IV) <i>Gluconate de quinine</i>	1 mgr., 1 h. avant l'infection. 1 mgr., 24 h. après.	v v v v v v	v v v v v v	v v v v v v	+ + + + + v	 +
V) <i>Gluconate de quinine</i>	2 mgr., 1 h. avant l'infection. 1 mgr., 24 h. après.	v v v v v v	v v v v v v	v v v v v v	+ + + + + v	 +

En résumé, l'action de la quinine sur la streptococcie expérimentale n'est visible, aux doses que nous avons employées (0 gr. 15 par kgr. en 24 heures environ) que par voie sous-cutanée. Elle se manifeste par un léger retard à l'issue fatale. S'agit-il

d'une action sur l'agent pathogène ou bien plutôt d'une augmentation passagère de la résistance de l'organisme ? Les deux thèses sont soutenables. Quoi qu'il en soit, l'acide qui salifie l'alcaloïde ne paraît pas intervenir dans son activité.

2^o *Pneumococcie expérimentale.*

Le Pneumocoque appartenait au type I et provenait de la souche « Pneumocoque Kaikan » de l'Institut Pasteur. Repiqué sur bouillon T ascite, il a donné en 20 heures une culture abondante qui a servi pour infecter les animaux par voie intra-péritonéale.

a) Vérification de la virulence de la souche.

Dilution du bouillon de culture	Inoculation intra- péritonéale	Jour de l'infect.	24 h.	30 h.	48 h.	3 j.	4 j.	10 j.	15 j.
1/100 ^e	0 cc. 3	v v v v v v	+ v v v v v	 + + + v v	 + +				
1/1.000 ^e	0 cc. 3	v v v v v v	v v v v v v	+ v v v v v	 + + + + +				
1/10.000 ^e	0 cc. 3	v v v v v v	v v v v v v	v v v v v v	+ + + + + +				
1/100.000 ^e	0 cc. 3	v v v v v v	v v v v v v	v v v v v v	v + + v v +	 + + v v v	 v v v	 v v v	 + + +

b) Nous présentons trois séries d'essais qui ont été effectués sur des animaux ayant reçu 0 cc. 3 d'une dilution au 1/1.000^e du bouillon de culture, par voie intra-péritonéale.

Dans le premier tableau on trouvera les résultats obtenus en traitant les souris par 1 ou 2 mgr. de quinine par voie sous-cutanée, 1 heure avant l'infection et 1 mgr. 24 heures après l'infection.

Le deuxième tableau exprime les résultats obtenus en traitant les animaux par 1/2 mgr. de quinine 1 heure avant l'infection, 7 heures après et chaque jour suivant. Les solutions des sels de quinine étaient à 0 gr. 10 % en base.

Groupement des animaux	Traitement par voie sous-cutanée	Jour de l'infect.	24 h.	48 h.	3 j.	4 j.
I) <i>Témoins</i>	nul	v v v v v v v v v v	v v v v v v v v v v	+ + + + + + + v v v		
II) <i>Chlorhydrate de quinine</i>	1/2 mgr., 1 h. avant l'infection. 1/2 mgr., 7 h. après et chaque jour suivant.	v v v v v v v v v v	v v v v v v v v v v	+ + + + + + + + + +		
III) <i>Phénylbutyrate de quinine</i>	Id.	v v v v v v v v v v	v v v v v v v v v v	+ + + + + + + + + +		
IV) <i>Phénylpropionate de quinine</i>	Id.	v v v v v v v v v v	v v v v v v v v v v	+ + + + + + + + + +		
					v	+

Les souris du 3^e essai ont été traitées avec des solutions de même concentration en alcaloïde, de la façon suivante : 1 mgr. de quinine 1 heure avant l'infection et chaque jour qui a suivi.

Tous nos résultats sont négatifs. Aux doses employées (0 gr. 10 à 0 gr. 15 par kgr.), que la quinine soit administrée sous forme de chlorhydrate, de gluconate, de phénylbutyrate ou de phénylpropionate, elle ne montre aucune action sur la pneumococcie expérimentale de la Souris.

Action des sels de quinine sur la cellule végétale.

Bien que, parmi beaucoup d'autres, les recherches de MORKOWINE (213) et les travaux de W. SIGMUND (302) aient montré que les alcaloïdes n'ont pas, vis-à-vis de la cellule végétale, des caractères de toxicité aussi considérables que vis-à-vis de la cellule animale, de nombreux auteurs ont utilisé les végétaux comme tests d'action pharmacodynamique. La facilité d'observation microscopique, la quantité quasi illimitée de matière vivante susceptible d'être expérimentée, les variations individuelles moins apparentes et surtout l'architecture somme toute plus simplifiée des tissus, ont largement contribué à étendre ce champ d'investigation et ont permis l'éclosion de techniques phytopharmacologiques qui ont pu donner, dans ces dernières années, avec les alcaloïdes, des données quantitatives précises (Travaux de D. I. MACHT (189) et de J. RÉGNIER, R. DAVID (254), R. JORIOT (136)).

La quinine n'a pas échappé de ce point de vue à la sagacité des chercheurs et son action sur la cellule végétale prend place dans de nombreux mémoires. Nous ne citerons ici que les principaux, plus soucieux de donner une idée de la direction des recherches, que d'entrer dans le détail d'essais qui n'intéressent pas directement notre étude.

P. O. RÉVEIL (273) dans un travail considérable publié en 1865, semble être le premier à expérimenter, parmi bien d'autres toxiques, le sulfate de quinine sur le développement des graines d'orge, de haricot et de chènevis. DUBOIS (71) fait germer des graines de cresson alénois dans des solutions de chlorhydrate de morphine, de strychnine, de quinine et de cocaïne. Il observe que la germination est avancée de trois jours dans la solution de strychnine, un peu moins dans les solutions de cocaïne et de morphine et beaucoup moins dans la solution de quinine. Sur la plante elle-même DARWIN (58) note une inhibition des tenta-

cules du *Drosera rotundifolia* avec une solution à 1/1.000 de sulfate de quinine. De nombreuses recherches (KERNER (143), LIÉBIG (174), MÜLLER (215), etc.) mettent en évidence une action inhibitrice de la quinine sur la fermentation de la levure. MARCASSI (192) et plus tard SCHWARTZ (297), puis TAPPEINER (311) étudient l'action des alcaloïdes en fonction de la lumière. MARCASSI trempe des feuilles de *Lemna minor* dans une solution de quinine à 0,25 %. Ces feuilles jaunissent si on les expose à la lumière, alors qu'elles restent vertes à l'obscurité ; la strychnine et la morphine agissent de la même façon. SCHWARTZ observe en particulier que les Champignons inférieurs ne peuvent croître dans des solutions à 0,50 % en quinine ; toutefois on doit noter que BINZ (25) avait constaté auparavant que les moisissures ordinaires sont capables de se développer dans des solutions de quinine, même renfermant un peu d'acide sulfurique libre.

TAPPEINER constate que la quinine a une action toxique à la lumière, mais pas à l'obscurité, sur les semences en voie de germination et les fermentations.

En 1899, L. LUTZ (183) utilise la quinine comme source d'azote pour étudier le métabolisme de cet élément chez les végétaux.

M. v. EISLER et L. v. PORTHEIM (74) remarquent que la quinine inhibe les mouvements protoplasmiques chez *Elodea canadensis*. Expérimentant sur les cellules de *Spirogyra*, TRONDLE (322) conclut que la quinine pénètre plus lentement des solutions de ses sels (chlorhydrate) que des solutions de la base libre et encore plus lentement de la solution du sel additionnée d'acide. Ces résultats s'accordent avec ceux d'OVERTON et de RUHLAND.

P. NOBÉCOURT (220) en 1921 étudie l'action de quelques alcaloïdes sur le *Botrytis cinerea* et voit que la quinine est nuisible à haute dose. G. MEZZACHOLI et A. AMATI (200) poursuivent des recherches similaires sur l'*Aspergillus niger* et constatent que le sulfate de quinine, à des concentrations variant de 0,50 à 3 ‰, favorise le développement de la moisissure et accélère le métabolisme des glucides.

LEPOW (172) a observé avec le chlorhydrate et le sulfate de quinine une action toxique sur les plasmodes de *Physarum polycephalum* bien plus intense que celle des autres alcaloïdes (strychnine, atropine, morphine, éphédrine, cocaïne).

DRAGONE-TESTI (70) expérimentant sur *Salvia Grahmi* et

Salix Babylonica a constaté qu'une solution à 0,01 %₀₀ de sulfate de quinine accélère la formation des racines.

Ce bref aperçu montre, qu'en général, les auteurs ont surtout cherché une action qualitative de l'alcaloïde, sans d'ailleurs se préoccuper de l'influence possible de l'acide qui le salifie, sur l'aspect du végétal ou sur son métabolisme, ou sur la quantité de matière vivante formée. On déterminait plutôt une action toxique de l'alcaloïde, se traduisant presque toujours par une inhibition, plutôt qu'une action pharmacodynamique réversible.

Nous avons voulu connaître l'action quantitative de la quinine sous ces deux aspects, en nous adressant d'une part, pour mesurer sa toxicité, à un Archéphyte, *Euglena gracilis*. KLEBS, d'autre part, pour étudier une action pharmacodynamique compatible avec la vie du cytoplasme, à un Métaphyte, l'*Ascoïdea rubescens*. BREFELD, Champignon Hémiascomycète.

Nous allons exposer en premier lieu nos recherches sur la cellule végétale libre, en second lieu, les essais que nous avons effectués sur les hyphes d'*Ascoïdea*.

1^o Toxicité de la quinine pour *Euglena gracilis*. KLEBS.

Euglena gracilis est un Monadophyte très mobile, à un seul flagelle, qui a été bien étudié par ZUMSTEIN (338) et dont le pouvoir de synthèse en culture bactériologiquement pure, à la lumière et à l'obscurité, a fait l'objet des recherches de LWOFF (184).

Le problème que nous nous posions n'exigeait pas d'opérer en milieu exempt de germes autres que l'Archéphyte dont nous voulions nous servir de test pharmacodynamique. Il nous suffisait d'opérer sur une culture simplement unalgale (*) permettant des recherches comparatives.

Nous avons cultivé *Euglena gracilis* sur le milieu qui a permis, depuis plusieurs années, à M. LEFÈVRE, la culture clonique unalgale de nombreuses Desmidiées (171).

Voici la formule de ce milieu dans sa forme actuelle :

(*) Nous remercions M. M. LEFÈVRE, Assistant de Cryptogamie au Muséum National, de nous avoir communiqué la souche et conseillé pour sa culture.

Eau bidistillée.....	1.000 gr.
NO ₃ K	0,200 gr.
PO ₄ K ₂ H	0,040 gr.
SO ₄ Mg	0,030 gr.
(NO ₃) ₂ Ca.....	0,040 gr.
Cl ₂ Fe ₂ (Codex)	1 goutte
Peptone Chapoteaut.....	0,175 gr.
Extrait de terre.....	10 cc.
Extrait de Sphagnum.....	5 cc.

Les différents sels et la peptone étant dissous dans l'eau, on stérilise à 100°-105°, pendant 5 à 10 minutes.

Pour préparer l'extrait de terre on pèse 300 gr. de terre de jardin dans un ballon de 1 litre et recouvre aux 3/4 d'eau. On porte à l'ébullition 1/2 heure. On filtre. On stérilise à 100°-105° pendant 5 à 10 minutes.

L'extrait de Sphagnum se prépare de façon analogue. Un ballon de 1 litre est à moitié rempli de sphaignes que l'on recouvre d'eau distillée. On fait bouillir 1/2 heure. On filtre et stérilise comme précédemment.

On introduit les quantités requises d'extraits de terre et de Sphagnum aseptiquement à l'aide de pipettes stériles. La stérilisation des milieux ne doit pas être poussée trop loin afin d'éviter la formation de louches par interréaction des constituants. Toutefois, si le milieu présente un très léger dépôt de phosphates, cela n'a aucun inconvénient et il vaut mieux le laisser tel quel. Les précautions bactériologiques sont prises, non pas pour éviter les Bactéries, toujours présentes puisqu'entraînées avec les Euglènes, mais pour éliminer les Algues vertes minuscules (Chlorelles, Protococcales, etc...) qui se trouvent toujours dans l'eau ou dans l'air et qui résistent à la dessiccation en température normale.

Nos cultures unialgales ont été effectuées à 23° à la lumière artificielle (lampe de 40 w. placée à 25 cm. environ) dans des Erlenmeyers de 500 cc. contenant 250 cc. de milieu. Au bout de quelques jours, après départ des cultures, nous avons conservé à la température du laboratoire (18°) en lumière naturelle. On peut repiquer tous les mois.

Nous avons expérimenté sur des cultures de 15 jours présentant un pH de 6,9.

a) *Influence du pH.* — Pour étudier l'influence du pH du mi-

lieu sur la vitalité des Euglènes, nous avons, par une série d'essais à blanc, cherché la quantité de soude ou d'acide chlorhydrique qu'il faut ajouter à un mélange à parties égales de suspension d'Algues et d'eau distillée en présence du colorant convenable (échelle de Michaëlis).

Dans un deuxième temps, nous avons ajouté les quantités d'acide ou de base trouvées à 5 cc. d'eau distillée, puis ajouté 5 cc. de culture.

En prélevant une goutte du mélange, que nous examinions sous lamelle, à l'oculaire 2 et à l'objectif 5 (grossissement 70), nous suivions la vitalité de nos Phytoflagellés en fonction du pH et du temps.

Nous avons constaté que les Euglènes sont fixées presque immédiatement à pH = 2,0 et à pH = 3,0. A pH = 4,0 elles gardent leur mobilité plusieurs heures, mais les mouvements sont ralentis. De pH = 5,0 à pH = 9,0 elles vivent comme le témoin.

b) *Action du chlorhydrate de quinine.* — En mélangeant dans un tube à hémolyse 2 cc. d'une solution de chlorhydrate basique de quinine à 2 % en base avec 2 cc. de suspension d'Euglènes, et en prélevant de temps à autre une goutte du mélange que l'on examine sous lamelle, on observe que les mouvements de translation des Monadophytes se ralentissent immédiatement. Ceux-ci ne tardent pas à s'en aller comme à la dérive puis, leur flagelle se paralysant, ils perdent toute mobilité, prennent une forme de toupie, s'arrondissent complètement, s'étirent pour reprendre la forme fuselée, et redeviennent sphériques ou ovoïdes. Finalement, ils se fixent dans cet état et l'on ne perçoit plus que quelques mouvements des chloroplastes. On observe encore quelques signes d'extension et de repli, puis tout mouvement cesse. C'est *le stade léthal* qui apparaît en une demi-heure environ avec cette concentration de 1 % en quinine (*).

Ce processus d'intoxication ressemblerait en tous points à celui que nous avons décrit pour les Protozoaires si nous avions noté l'apparition de boules sarcodiques, or, nous n'en avons pas vu. Nous constatons aussi, fait d'ailleurs classique, que la cellule végétale est beaucoup plus résistante que la cellule animale à la

(*) Signalons que nous avons noté avec une concentration de 0,05 % une action excitante assez visible qui confirme une observation ancienne de BINZ (26) sur *Euglena viridis*.

quinine, puisqu'il faut une concentration environ 10 fois plus forte que pour les Glaucoma et 30 fois plus forte que pour les Amibes, pour obtenir un effet toxique semblable dans le même temps.

Cette résistance particulière nous a empêché d'étudier tous nos sels et nous n'avons expérimenté qu'avec ceux qui sont suffisamment solubles dans l'eau.

Pour connaître l'influence du pH sur la toxicité de la quinine à l'égard des Euglènes, nous avons procédé comme précédemment, en ajustant convenablement une solution de chlorhydrate basique de quinine à 2 % en base. A 5 cc. de cette solution, nous avons ajouté 5 cc. de culture. Nous avons ainsi une concentration finale en quinine de 1 %. Le *stade léthal* a été obtenu, dans une expérience effectuée à 19°,

en 85 minutes pour	pH = 5,2
en 32 —	pH = 6,2
en 20 —	pH = 6,6

Il y a donc toujours accroissement d'activité avec l'augmentation du pH, comme pour les Protozoaires.

c) *Influence de l'acide salifiant la quinine.* — Des solutions dans l'eau distillée à 0,20 ; 0,50 ; 1 et 2 % en base, ont été faites avec les sels assez solubles pour obtenir ces concentrations. En mélangeant parties égales de solution et de culture nous avons obtenu des suspensions d'Euglènes, de concentration moitié moindre en quinine, dont nous avons suivi la marche d'intoxication comme précédemment.

Nous présentons ci-dessous une expérience type effectuée à 18°. Les chiffres expriment les temps en minutes pour obtenir le stade léthal chez toutes les Euglènes d'une goutte (une vingtaine de Monadophytes en moyenne).

Sels	0,10 %	0,25 %	0,50 %	1 %
Phénylacétate.....	125			
Isobutyrate.....		120	50	20
Valérienate.....		125	55	
Formiate.....		125	55	30
Chlorhydrate.....		140	55	30
Lactate.....		125	60	30
Bromhydrate.....		150	60	30
Quinate.....		180	65	40
Gluconate.....		180	120	55

Les courbes concentration-action sont encore de forme hyperbolique et permettent de classer les sels, selon leur activité croissante, suivant un ordre très voisin de celui que nous a donné l'expérimentation sur les Protozoaires, savoir :

gluconate < quinate < bromhydrate < lactate $\leq$ chlorhydrate < formiate < valérianate < isobutyrate < phénylacétate.

Ces résultats s'accordent avec ceux que J. RÉGNIER, nous-même et JEAN-BAPTISTE (271) avons obtenus avec les sels d'émétine sur le même témoin.

Si donc la perméabilité de la cellule végétale apparaît moins facile pour la quinine que celle de la cellule animale, puisque la toxicité de l'alcaloïde est relativement plus faible, elle est influencée de façon parallèle par l'acide salifiant.

En est-il de même si l'on prend comme témoin non plus un processus d'intoxication irréversible, mais une action pharmacodynamique réversible telle que celle que nous allons étudier maintenant ?

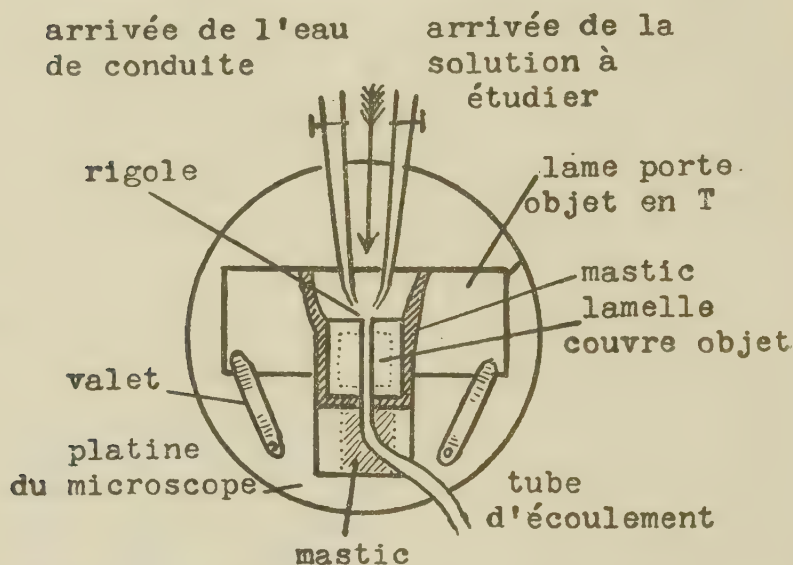
2° Action de la quinine sur l'équilibre cytoplasmique chez *Ascoïdea rubescens*. BREFELD.

Nous avons là encore expérimenté au niveau même de la cellule végétale, mais dans des conditions qui apparaissent compatibles avec la vie du cytoplasme. Nous nous sommes adressé pour cela aux hyphes d'un champignon Hémiascomycète, bien étudié par B. VARITCHAK (325), l'*Ascoïdea rubescens*. BREFELD.

P. GAVAUDAN (104) a montré, en effet, que sous l'influence de quelques colorants vitaux basiques et de divers poisons (acide cyanhydrique, chlorhydrate de cocaïne, sulfate de spartéine, chlorhydrate de morphine, hydrate de chloral), l'équilibre colloïdal entre cytoplasme et vacuome est extrêmement labile chez *Ascoïdea rubescens* : le système vacuolaire représenté soit par un siphon continu, soit par un réseau plus ou moins compliqué découpant le cytoplasme, se contracte et se réduit à quelques vacuoles sphériques (2 à 5) disposées en chapelet selon le grand axe de la cellule. Ce nouvel état d'équilibre entre cytoplasme et vacuome persiste un certain temps puis, si la dose de poison employée est assez faible, les sphères vacuolaires réintègrent bientôt spontanément la masse générale du corps cellulaire.

Une modification aussi nette de l'aspect du contenu de la cellule végétale, sans destruction de la vie, nous a paru, avec J. RÉGNIER et P. GAVAUDAN (257), intéressante à plus d'un titre, en particulier pour étudier l'action quantitative des médicaments et procéder à l'étude comparative de l'action des différents sels organiques d'alcaloïdes.

C'est dans ce but que nous avons mis au point le mode opératoire suivant : sur le mycélium, cultivé en bouillon à la carotte, on prélève quelques hyphes et on les étale dans la rigole d'un



appareil de microperfusion disposé sur la platine du microscope, inclinée à 30°, de telle sorte que la perfusion des hyphes se fasse par écoulement lent et continu, sans déplacement ni écrasement de l'objet. Cet appareil est constitué, comme le montre la figure, par une plaque de verre en T de 1 mm. 5 d'épaisseur, sur laquelle on a fixé au baume deux lamelles parallèles (épaisseur 0 mm. 2) distantes de 2 mm. De l'extrémité inférieure de la rigole ainsi constituée, part un tube de verre maintenu par un mastic, tube servant à l'écoulement. Deux tubes fins amènent à la partie supérieure de la rigole, l'un de l'eau de robinet, l'autre la solution d'alcaloïde. Une goutte d'eau de conduite étant placée dans la rigole, on y allonge les filaments mycéliens et on recouvre d'une

lamelle. On perfuse avec précaution, goutte à goutte, de façon que la circulation se fasse bien dans le couloir où gisent les hyphes, ce qui s'obtient facilement si l'on a eu soin de graisser très légèrement, à l'exclusion de la rigole, les deux lamelles parallèles sur lesquelles est placée la lamelle couvre-objet. Le système est examiné au microscope (oculaire compensateur 9, objectif 3) à l'aide d'un éclairage frisant de grande intensité (lampe Stiassnie pour ultra) : ainsi, le cytoplasme apparaît lumineux et le vacuome apparaît sombre (P. GAVAUDAN (103)).

Voici résumées les constatations primordiales que nous avons faites à l'aide de ce matériel :

Une perfusion, prolongée pendant 5 heures, avec l'eau de conduite, ne donne lieu à aucune modification de l'état primitif et n'altère pas la vie de la cellule. En effet, si l'on perfuse alors par une solution d'alcaloïde de concentration suffisante, l'équilibre cytoplasmique est immédiatement rompu. Il faut évidemment prendre soin d'écarter de l'expérience certaines hyphes particulièrement excitables qui présentent la formation des vacuoles sphériques sous la simple influence du prélèvement et de la mise en place.

Une perfusion d'une heure avec l'eau de conduite ajustée (par l'acide chlorhydrique ou la soude) aux pH compris entre 3 et 9 ne semble pas modifier, dans les conditions des essais, l'état primitif du vacuome et n'altère pas, de notre point de vue, la vie de la cellule.

L'élévation de température ou celle du pH, s'accompagnent d'une augmentation de sensibilité de l'*Ascoïdea rubescens* à l'action toxique.

Après avoir constaté, avec le chlorhydrate, que la quinine agit comme les autres alcaloïdes étudiés sur ce champignon, nous avons expérimenté nos sels de quinine en les mettant en solution dans l'eau de conduite et en perfusant les hyphes jusqu'à apparition des vacuoles. Le pH des solutions étant aux environs de 7,2 — 7,4 nous avons déterminé, par de nombreux essais pour chaque sel, la concentration seuil, à la température de 16°-18° (c'est-à-dire la concentration qui provoque l'apparition des vacuoles après 1/2 heure au plus de perfusion).

Nous donnons ci-dessous des expériences types effectuées avec deux sels d'activité très différente (gluconate et phénylbutyrate)

comme le montre le tableau qui suit et dans lequel on a classé les sels en série d'activité croissante.

1° Expériences avec le gluconate de quinine.

- a) 15 h. 50. Perfusion des hyphes avec l'eau de conduite.
16 h. 35. Perfusion des hyphes avec solution de gluconate 1/5.000.
16 h. 50. Pas de vacuoles.
- b) 16 h. 40. Perfusion des hyphes avec l'eau de conduite.
16 h. 55. Perfusion des hyphes avec solution de gluconate 1/4.000.
17 h. 25. Rares vacuoles.

2° Expériences avec le phénylbutyrate de quinine.

- a) 14 h. 50. Perfusion des hyphes avec l'eau de conduite.
15 h. 05. Perfusion des hyphes avec solution de phénylbutyrate 1/10.000.
15 h. 35. Pas de vacuoles.
- b) 17 h. 05. Perfusion des hyphes avec l'eau de conduite.
17 h. 20. Perfusion des hyphes avec solution de phénylbutyrate 1/9.000.
17 h. 30. Apparition des vacuoles.

Dans l'ensemble nous avons la série habituelle, tant en ce qui concerne les concentrations actives que les vitesses d'apparition du déséquilibre cytoplasmique, mais deux anomalies sont observées : celle du phénylpropionate qui apparaît comme très peu actif et celle du quinate qui, contrairement à ce qu'on pourrait attendre, se place parmi les sels actifs.

Nous avons multiplié les expériences, nous adressant même à une souche d'*Ascoïdea* d'origine différente aimablement communiquée par M. R. HEIM. Nous avons retrouvé sensiblement les mêmes doses.

Nous constatons le fait sans pouvoir l'expliquer, car il ne peut s'agir d'une action inhibitrice particulière de l'ion phénylpropionique sur l'équilibre cytoplasmique, puisque dans nos recherches avec les sels de novocaïne, le phénylpropionate se trouvait plus actif que le chlorhydrate.

Sels	Concentration seuil en base anhydre	Temps d'apparition des vacuoles en minutes
Phénylpropionate	1/4 000	30
Gluconate.....		30
Citrate		20
Lactate		15
Bromhydrate		15
Chlorhydrate	1/5.000	30
Valérianate		25
Sulfate		15
Formiate		10
Isobutyrate.....		5
Quinate.....	1/6.000	30
Benzoate.....		30
Phénylacétate.....	1/7.000	25
Phénylbutyrate.....	1/9.000	10

D'un point de vue plus général, si nous comparons les résultats obtenus avec les chlorhydrates de bases alcaloïdiques que nous avons étudiés sur ce matériel, nous voyons que la dose seuil qui, pour la cocaïne était aux environs de M/2716 (0,0125 %), pour la novocaïne de M/700 (0,034 %) est ici de M/1620 (0,02 %).

La quinine a donc une place intermédiaire et se trouve moins active que la cocaïne.

DEUXIÈME PARTIE

Recherches sur quelques propriétés physico-chimiques des sels de quinine.

Dissociation et hydrolyse des sels de quinine.

Nous avons vu, au début de ce travail, que les recherches de J. RÉGNIER sur l'activité anesthésique locale des sels de cocaïne ou de para-aminobenzoyldiéthylaminoéthanol, l'ont amené à concevoir l'action pharmacodynamique comme liée à la molécule saline alcaloïdique entière et non à la base seule. Cette conception paraît être en contradiction avec la théorie classique qui attribue aux ions seuls l'activité biologique des substances chimiques, elle s'oppose aussi à la théorie de O. GROS selon laquelle la partie active d'une solution d'un sel d'alcaloïde, serait la base libérée par hydrolyse.

Pour élucider cette question, J. RÉGNIER a entrepris avec ses élèves la détermination des constantes de dissociation et du degré d'hydrolyse de divers sels de para-aminobenzoyldiéthylaminoéthanol.

Avec M. ARDITI, S. BAZIN et S. CHANTEREAU (245) il est arrivé à la conclusion que la molécule de ces sels est fortement dissociée en solution aqueuse et qu'il n'existe pas de rapport régulier entre leur activité pharmacodynamique et leur ionisation. De plus les sels de para-aminobenzoyldiéthylaminoéthanol sont faiblement hydrolysés et il n'apparaît aucun rapport entre leur activité physiologique et leur degré d'hydrolyse (246).

Nous trouvant, avec les sels de quinine, devant le même problème, nous avons entrepris d'étudier, à notre tour, leur ionisation et leur hydrolyse en utilisant les mêmes techniques et le même appareillage.

Nous présentons en premier lieu les résultats obtenus dans la détermination des coefficients d'ionisation et des constantes de dissociation par la mesure des conductivités. En second lieu, les données concernant pour les divers sels, la constante et le degré d'hydrolyse calculés à partir des constantes de dissociation des sels et des acides correspondants et du pH des solutions salines à diverses dilutions.

**A) Détermination, par mesure des conductivités,
des coefficients d'ionisation et des constantes de dissociation
des sels de quinine.**

Suivant le schéma classique de la dissociation des sels, on peut supposer que les sels de quinine se dissocient en un ion acide et en un ou deux ions basiques « quinine », suivant que leur molécule contient une ou deux molécules de base alcaloïdique.

Le coefficient d'ionisation α ou degré de dissociation, qui exprime le rapport entre les molécules dissociées en ions et le total des molécules introduites dans la solution, est donné par la formule : $\alpha = \frac{\Lambda_m}{\Lambda_\infty}$. Cette expression résulte de considérations sur les vitesses des ions, que nous n'avons pas à développer ici (voir S. GLASSTONE (111) p. 77). Λ_m est la conductivité équivalente du sel dissout à une concentration donnée, Λ_∞ la conductivité équivalente du même sel à dilution infinie. α indique donc quel est l'état de la dissociation du sel dans une certaine solution.

La constante de dissociation K exprime la faculté de dissociation du sel dans l'ensemble de ses solutions.

Un raisonnement simple, basé sur la loi d'action de masses, permet de la connaître en fonction de α et de la concentration.

Dans le cas où la molécule saline donne deux ions, si M est la concentration équivalente de la solution, rapportée au décimètre cube, l'anion aura une concentration αM , le cation également, quant aux molécules non dissociées, elles seront évidemment :

$$M - \alpha M = (1 - \alpha) M$$

En établissant avec ces valeurs la loi des masses, il vient :

$$\frac{\alpha M \times \alpha M}{(1 - \alpha) M} = \frac{\alpha^2 M}{1 - \alpha} = K$$

Dans le cas où la molécule saline donne trois ions, un raisonnement analogue conduit à :

$$\frac{\alpha M \times \alpha M \times \alpha M}{(1 - \alpha) M} = \frac{\alpha^3 M^2}{1 - \alpha} = K$$

Nous supposons que cette dernière formule peut s'appliquer, par simplification et de façon approximative, au sulfate et au citrate, car leur peu de solubilité obligeant à opérer sous d'assez faibles concentrations, on peut admettre qu'ils sont alors complètement dissociés en trois ions.

La mesure de la conductivité des solutions aqueuses a été faite par la méthode de KOHLRAUSCH. La cuve, à électrodes de platine platiné, a été étalonnée à 18° par rapport à une solution de chlorure de potassium. Les déterminations sont facilitées par l'emploi d'un amplificateur sonore et réglage avec un œil magique (*). Les mesures ont été effectuées à 18°, sur des solutions préparées extemporanément dans l'eau bidistillée de pH 5,8 et de conductivité de 1 à 1,5.10⁻⁶ mho.

Les valeurs de Λ_m ont été déterminées pour différentes concentrations d'après les mesures expérimentales de la conductivité des solutions (Si Λ est la conductivité de la solution et M sa concentration équivalente; c'est-à-dire : solution normale : $M = 1$, $\Lambda_m = \frac{\Lambda}{M}$). La conductivité équivalente limite Λ_∞ a été obtenue par extrapolation de la courbe des valeurs de Λ en fonction du logarithme de M.

Nous donnons ci-dessous les valeurs de α et de K pour les diverses concentrations des solutions de sels de quinine. Les dilutions sont notées en « normalité », pour une même dilution, le titre en base est donc le même pour tous les sels.

(*) Cet appareillage est celui de l'Institut de Biologie physicochimique. Il sera décrit dans la thèse de Doctorat en Pharmacie que S. CHANTEREAU soutiendra prochainement. Nous remercions M^{lle} S. BAZIN de nous avoir initié à ces mesures.

Coefficients d'ionisation α à 18°.

Sels	N/100	N/250	N/400	N/500	N/800	N/1000	N/1400	N/2000
Chlorhydrate	0,925	0,960		0,976		0,988		0,995
Phénylpropionate			0,963		0,990		1,0	1,0
Phénylbutyrate			0,950		0,977		0,990	0,993
Gluconate	0,895	0,922		0,955		0,975		0,990
Lactate	0,863	0,915		0,950		0,972		0,995
Bromhydrate	0,833	0,904		0,942		0,970		0,992
Formiate	0,858	0,905		0,935		0,962		0,990
Quinate	0,784	0,880		0,903		0,970		0,983
Isobutyrate	0,816	0,863		0,902		0,942		0,983
Valérianate			0,897		0,946		0,973	0,985
Benzoate			0,867		0,925		0,960	0,975
Phénylacétate			0,868		0,913		0,945	0,967
Citrate			0,900		0,955		0,982	0,993
Sulfate			0,915		0,958		0,982	0,992

Les résultats exprimés par les tableaux ci-dessus et ci-contre mettent en évidence les faits suivants :

1° Les coefficients d'ionisation présentent des valeurs élevées souvent voisines de l'unité. Tous les sels de quinine sont donc fortement dissociés.

2° Pour tous les sels la constante de dissociation est élevée et varie avec la concentration de la solution. Les sels de quinine ne suivent donc pas la loi de dilution d'OSTWALD et se comportent comme des électrolytes forts.

3° Les sels sont classés dans le tableau, de haut en bas, selon leur constante de dissociation moyenne décroissante. Nous voyons que si des sels comme le citrate et le sulfate sont parmi les plus faiblement dissociés, nous trouvons parmi ceux-ci le benzoate et le phénylacétate dont l'activité physiologique, particulièrement sur les Protozoaires et la cellule végétale n'est pas apparue faible. Nous constatons que le chlorhydrate et le gluconate sont en tête de liste.

En outre, il n'est pas possible de voir une relation entre la constitution chimique de l'acide salifiant et la constante de dissociation du sel. Si le formiate est plus dissocié que l'isobutyrate et le valérianate, le benzoate l'est moins que le phénylpropionate et le phénylbutyrate.

Notons que nos résultats s'accordent avec les conclusions de

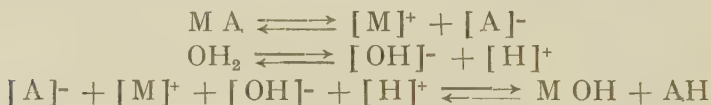
Constantes de dissociation K à 18°.

Sels	N/100	N/250	N/400	N/500	N/800	N/1000	N/1400	N/2000
Chlorhydrate.....	5,80.10 ⁻²	4,60.10 ⁻²		3,80.10 ⁻²		3,90.10 ⁻²		4,95.10 ⁻²
Phénylpropionate...			3,08.10 ⁻²		6,12.10 ⁻²			
Phénylbutyrate.....			2,25.10 ⁻²		2,38.10 ⁻²		3,50.10 ⁻²	3,27.10 ⁻²
Gluconate.....	4,00.10 ⁻²	2,23.10 ⁻²		2,02.10 ⁻²		1,90.10 ⁻²		2,45.10 ⁻²
Lactate.....	2,89.10 ⁻²	2,02.10 ⁻²		1,80.10 ⁻²		1,72.10 ⁻²		4,95.10 ⁻²
Bromhydrate.....	2,28.10 ⁻²	1,76.10 ⁻²		1,54.10 ⁻²		1,57.10 ⁻²		3,07.10 ⁻²
Formiate.....	2,77.10 ⁻²	1,80.10 ⁻²		1,36.10 ⁻²		1,23.10 ⁻²		2,45.10 ⁻²
Quinate.....	1,57.10 ⁻²	1,38.10 ⁻²		0,88.10 ⁻²		1,51.10 ⁻²		1,38.10 ⁻²
Isobutyrate.....	1,98.10 ⁻²	1,17.10 ⁻²		0,87.10 ⁻²		0,77.10 ⁻²		1,38.10 ⁻²
Valérianate.....			1,00.10 ⁻²		1,07.10 ⁻²		1,22.10 ⁻²	1,38.10 ⁻²
Benzoate.....			7,50.10 ⁻³		7,37.10 ⁻³		8,20.10 ⁻³	9,50.10 ⁻³
Phénylacétate.....			7,50.10 ⁻³		6,40.10 ⁻³		5,78.10 ⁻³	6,85.10 ⁻³
Citrate.....			1,68.10 ⁻⁵		1,05.10 ⁻⁵		0,88.10 ⁻⁵	1,64.10 ⁻⁵
Sulfate.....			2,03.10 ⁻⁵		1,14.10 ⁻⁵		0,88.10 ⁻⁵	1,22.10 ⁻⁵

K. HRYNAKOWSKI, S. CHWOJKA et A. ZOCHOWSKI (127) qui ont étudié la dissociation de quelques sels de quinine à acide minéral. Ils ont trouvé que le chlorhydrate et le nitrate sont plus fortement ionisés que le sulfate et le phosphate. F. F. JOHNSON (135) a également constaté, avec le chlorhydrate, que le degré de dissociation augmente et devient sensiblement inversement proportionnel à la concentration, lorsque celle-ci est au-dessous de 0,08 molaire (N/12).

B) Etude de l'hydrolyse des sels de quinine.

L'hydrolyse est la décomposition par l'eau d'un sel en ses constituants, acide et base. Soit un sel MA donnant en solution les ions $[M]^+$ et $[A]^-$, ceux-ci réagissent avec les ions de l'eau suivant les réactions d'équilibre :



Soit en faisant la somme :



Si l'acide AH et la base MOH sont faiblement dissociés, les quantités d'ions $[A]^-$ et $[M]^+$ dépassent, dès la mise en solution du sel MA , les valeurs d'équilibre des constantes de dissociation de l'acide : $Ka = \frac{[A]^- \times [H]^+}{AH}$ et de la base :

$$Kb = \frac{[M]^+ \times [OH]^-}{MOH}$$

les ions $[A]^-$ s'unissent donc aux ions $[H]^+$ et les ions $[M]^+$ aux ions $[OH]^-$ jusqu'à ce que les équilibres précédents soient atteints.

Les ions $[H]^+$ et $[OH]^-$ de l'eau disparaissent alors pour former l'acide AH et la base MOH : l'équilibre primitif



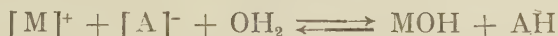
est détruit, et une certaine quantité d'eau s'ionise pour que le produit $[H]^+ \times [OH]^-$ demeure constant. Si la quantité d'ions $[H]^+$ disparus pour former l'acide AH est supérieure à celle

des ions $[\text{OH}]^-$ qui se sont unis aux ions $[\text{H}]^+$ (c'est-à-dire, si la base MOH est plus dissociée que l'acide AH), il reste un excès d'ions $[\text{OH}]^-$ qui donne à la solution une réaction alcaline.

Dans le cas inverse, la solution présente une réaction acide.

DEGRÉ ET CONSTANTE D'HYDROLYSE.

L'équilibre d'hydrolyse peut être représenté par l'équation :



En appliquant la loi d'action de masse, on obtient l'expression de la constante d'hydrolyse :

$$Kh = \frac{\text{MOH} \times \text{AH}}{[\text{M}]^+ \times [\text{A}]^- \times \text{OH}_2} \quad (\text{II})$$

Si la solution est suffisamment diluée, l'activité de l'eau non ionisée peut être considérée comme constante et l'on obtient la forme approximative de la constante d'hydrolyse :

$$Kh = \frac{\text{MOH} \times \text{AH}}{[\text{M}]^+ \times [\text{A}]^-} \quad (\text{III})$$

applicable seulement aux solutions diluées et en l'absence de grande concentration d'autres ions.

Le degré d'hydrolyse α est le rapport du nombre de molécules hydrolysées au nombre total de molécules mises en solution.

1° *Sel d'acide fort et de base faible.*

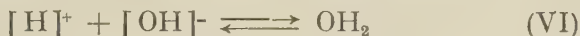
L'acide AH est complètement dissocié, les ions $[\text{H}]^+$ et $[\text{A}]^-$ ne tendent donc pas à s'unir et l'équilibre d'hydrolyse se réduit à l'équation :



soit pour expression de la constante d'hydrolyse :

$$Kh = \frac{\text{MOH} \times [\text{H}]^+}{[\text{M}]^+} \quad (\text{V})$$

Or les équilibres suivants coexistent dans la solution :



on a donc les relations

$$\frac{[M]^+ \times [OH]^-}{OH_2} = Ke \text{ ou } [H]^+ \times [OH]^- = Ke$$

$$\frac{[M]^+ \times [OH]^-}{MOH} = Kb$$

et $\frac{Ke}{Kb} = \frac{([H]^+ [OH]^-) \times MOH}{[M]^+ \times [OH]^-} = \frac{[H]^+ \times MOH}{[M]^+}$, c'est-à-dire (V)

$$Kh = \frac{Ke}{Kb}$$

La constante d'hydrolyse d'un sel d'acide fort et de base faible est donc égale au quotient du produit ionique de l'eau par la constante de dissociation de la base.

D'autre part, la relation de la constante d'hydrolyse et du degré d'hydrolyse x est la suivante :

Soit x le degré d'hydrolyse, v le volume de solution contenant 1 molécule gramme de sel MA. Les concentrations en molécules grammes ou en ions grammes par litre de solution sont :

$$H = \frac{x}{v} \quad MOH = \frac{x}{v} \quad \text{et} \quad M = \frac{1-x}{v}$$

La constante d'hydrolyse a donc comme valeur :

$$Kh = \frac{MOH \times [H]^+}{[M]^+} = \frac{\frac{x}{v} \times \frac{x}{v}}{\frac{1-x}{v}} = \frac{x^2}{(1-x)v} \quad \text{(VIII)}$$

d'où

$$x = \frac{vKh}{2} + \sqrt{\frac{v^2}{4} Kh^2 + vKh}$$

Si Kh est petit, l'expression se réduit approximativement à

$$x = \sqrt{vKh} \quad \text{ou} \quad x = \sqrt{\frac{Kh}{c}},$$

c étant la concentration du sel en molécules grammes par litre
 $= \frac{1}{v}$.

Les relations du degré et de la constante d'hydrolyse avec la concentration en ions hydrogène de la solution sont les suivantes : Nous avons vu que

$$[H]^+ = \frac{x}{v} \quad \text{et} \quad Kh = \frac{x^2}{(1-x)v} \quad (\text{VIII})$$

d'où

$$x = [H]^+ v$$

et

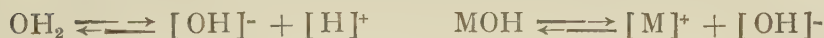
$$Kh = \frac{([H]^+)^2 v}{1 - (v[H]^+)}$$

2° Sel d'acide faible et de base faible.

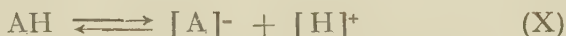
L'expression approchée de la constante d'hydrolyse est ici :

$$Kh = \frac{MOH \times AH}{[M]^+ \times [A]^-} \quad (\text{IX})$$

Comme dans le cas précédent, on a les équilibres (VI) (VII) :



et



d'où l'on tire les valeurs des constantes de dissociation :

$$Ke = [OH]^- \times [H]^+$$

$$Kb = \frac{[M]^+ \times [OH]^-}{MOH} \quad \text{et} \quad Ka = \frac{[A]^- \times [H]^+}{AH} \quad (\text{XI})$$

or,

$$\frac{Ke}{Ka Kb} = \frac{[OH]^- \times [H]^+ \times AH \times MOH}{([A]^- \times [H]^+) \times ([M]^+ \times [OH]^-)} = \frac{AH \times MOH}{[A]^- \times [M]^+}$$

c'est-à-dire (IX).

Donc :

$$Kh = \frac{Ke}{Ka Kb}$$

La constante d'hydrolyse d'un sel d'acide faible et de base faible est donc égale au quotient du produit ionique de l'eau

par le produit des constantes de dissociation de l'acide et de la base.

La relation de la constante d'hydrolyse et du degré d'hydrolyse x est la suivante :

Soit $\frac{x}{v}$ la concentration de la base MOH, pratiquement non ionisée et $\frac{x}{v}$ la concentration de l'acide également non ionisé, la concentration des ions $[M]^+$ et $[A]^-$ sera :

$$\frac{1-x}{v} \text{ d'où } Kh = \frac{AH \times MOH}{[M]^+ \times [A]^-} = \frac{\frac{x}{v} \times \frac{x}{v}}{\frac{(1-x)}{v} \frac{(1-x)}{v}} = \frac{x^2}{(1-x)^2}$$

de cette formule on tire la valeur de x :

$$x = \frac{\sqrt{Kh}}{1 + \sqrt{Kh}}. \text{ Si } Kh \text{ est petit, on a approximativement}$$

$$x = \sqrt{Kh}$$

Dans ce cas, le degré d'hydrolyse est indépendant de la concentration : toutefois dans les solutions très diluées l'ionisation de l'acide et de la base entre en jeu et cette formule n'est plus applicable.

La concentration en ions $[H]^+$ de la solution est donnée par l'équation :

$$Ka = \frac{[H]^+ \times [A]^-}{AH}$$

d'où :

$$[H]^+ = Ka \frac{AH}{[A]^-}$$

$$\text{mais } AH = \frac{x}{v} \quad \text{et } [A]^- = \frac{1-x}{v}$$

d'où :

$$[H]^+ = Ka \times \frac{x}{1-x}$$

La relation de la concentration en ions $[H]^+$ de la solution et de la constante d'hydrolyse est la suivante :

$$\text{On a } Kh = \frac{x^2}{(1-x)^2} \quad \text{donc } [H]^+ = Ka \sqrt{Kh}$$

$$Kh = \frac{([H]^+)^2}{Ka^2}$$

A l'aide de ces formules, il est donc possible de calculer la constante et le degré d'hydrolyse d'un sel :

1° à partir des constantes de dissociation de l'acide et de la base qui lui ont donné naissance ;

2° à partir des valeurs des pH des solutions.

La valeur de ces deux méthodes est inégale. La détermination à partir du pH des solutions ne tient pas compte de l'ionisation de l'eau et ne peut être appliquée sans erreur, d'après KOLTHOFF (150), aux sels peu hydrolysés (moins de 1 %).

Les valeurs des constantes de dissociation des acides et des bases étant susceptibles d'être déterminées avec précision, la méthode de détermination des constantes et degrés d'hydrolyse à partir de ces valeurs paraît être la plus exacte (S. GLASTONE (111), p. 187).

Nous avons calculé la constante et le degré d'hydrolyse de nos sels de quinine par les deux méthodes.

Nous présentons dans les tableaux suivants :

1° les valeurs du pH des solutions des sels de quinine (pH de l'eau distillée = 5,8) suivant leur concentration équivalente déterminées par la méthode d'opposition avec une électrode d'antimoine étalonnée par rapport à l'électrode à hydrogène ;

2° les constantes de dissociation de la base quinine et des acides organiques que nous avons relevées dans la littérature ou que nous avons déterminées (acide phénylbutyrique, acide gluconique, acide quinique) ;

3° les valeurs de la constante et du degré d'hydrolyse des sels de quinine à acide fort et à acide faible, calculées par les deux méthodes dont nous venons d'exposer les principes.

Valeurs du pH des solutions de sels de quinine.

Sels	N/100	N/250	N/400	N/500	N/800	N/1000	N/1400	N/2000
Citrate			5,40		5,28		5,27	5,50
Lactate	5,93	6,17		6,55		7,27		6,65
Sulfate			6,40		6,68		6,83	7,92
Chlorhydrate	6,12	6,08		6,73		6,87		6,95
Quinate	6,42	6,75		6,42		6,50		6,65
Phénylbutyrate			6,48		6,65		6,68	6,87
Bromhydrate	6,28	6,43		6,64		6,84		7,20
Gluconate	6,50	6,48		6,57		7,0		6,10
Benzoate			6,60		6,83		7,0	7,05
Formiate	6,40	6,60		6,60		6,77		7,0
Phénylpropionate			6,65		6,80		6,87	7,0
Isobutyrate	6,48	6,57		6,72		6,63		6,43
Phénylacétate			6,75		6,90		6,72	7,12
Valérianate			6,75		6,95		8,32	6,87

Les courbes tracées à l'aide de ces chiffres, en portant en abscisses les concentrations et en ordonnées les pH correspondants, permettent de déterminer approximativement la valeur du pH pour laquelle la courbe atteint un plateau. C'est à partir de cette valeur que la constante d'hydrolyse a été calculée pour les sels d'acides faibles.

Constantes de dissociation de la base quinine.

Quinine base	$K_1 = 1,08 \cdot 10^{-6}$ (1)
—	$K_2 = 2,00 \cdot 10^{-10}$ (1)

Nous n'avons utilisé pour les calculs d'hydrolyse, que la constante K_1 qui intervient seule puisqu'il y a toujours une molécule de base pour une valence d'acide.

Constantes de dissociation des acides organiques.

Acide lactique	$1,41 \cdot 10^{-4}$ (2)
Acide quinique	$1,41 \cdot 10^{-4}$
Acide formique	$2,00 \cdot 10^{-4}$ (3)
Acide valériannique	$1,53 \cdot 10^{-5}$ (4)
Acide phénylbutyrique	$1,58 \cdot 10^{-5}$

(1) I. M. KOLTHOFF : *Biochem. Z.*, 1925, 162, 209.

(2) SENDDER : « The electrical conductivity and ionisation constants of organic compounds ». New-York, 1914.

(3) LANDOLT-BORNSTEIN : *Physikalisch-Chemische Tabellen*, Berlin, 1923.

(4) E. P. WIGHTMAN et H. C. JONES : *Am. Chem. J.*, 1911, 46, 56.

Constantes de dissociation des acides organiques (Suite).

Acide isobutyrique.....	2,84.10 ⁻⁵	(1)
Acide gluconique.....	2,82.10 ⁻⁵	
Acide phénylacétique.....	5,45.10 ⁻⁵	(2)
Acide benzoïque.....	6,86.10 ⁻⁵	(1)
Acide phénylpropionique.....	8,51.10 ⁻⁵	(1)
Acide citrique K ₁	3,02.10 ⁻³	(1)
— K ₂	6,31.10 ⁻⁵	
— K ₃	4,17.10 ⁻⁷	

Pour ce dernier acide, nous avons employé pour les calculs la moyenne de K₁ et de K₂ puisque ces deux fonctions sont seules salifiées.

Hydrolyse des sels de quinine.

1° Sels d'acide faible.

Sels	Constante d'hydrolyse	Degré d'hydrolyse	Constante d'hydrolyse	Degré d'hydrolyse
	Valeurs tirées de celles des constantes d'hydrolyse de l'eau, de la base et de l'acide		Valeurs tirées de la concentration de la solution en ions hydrogène	
	$= \frac{K_h}{K_a K_b}$	$x = \sqrt{K_h}$	$= \frac{K_h}{K_a}$	$x = \sqrt{K_h}$
Valérienate	4,18.10 ⁻⁴	2,04.10 ⁻²	6,77.10 ⁻⁵	8,22.10 ⁻³
Phénylbutyrate.....	4,04.10 ⁻⁴	2,01.10 ⁻²	1,60.10 ⁻⁴	1,26.10 ⁻²
Isobutyrate.....	2,73.10 ⁻⁴	1,65.10 ⁻²	1,17.10 ⁻⁴	1,08.10 ⁻²
Gluconate.....	1,97.10 ⁻⁴	1,40.10 ⁻²	1,26.10 ⁻⁴	1,12.10 ⁻²
Phénylacétate.....	1,17.10 ⁻⁴	1,08.10 ⁻²	8,42.10 ⁻⁶	2,90.10 ⁻³
Benzoate	9,30.10 ⁻⁵	9,61.10 ⁻³	3,27.10 ⁻⁶	1,81.10 ⁻³
Phénylpropionate	7,52.10 ⁻⁵	8,66.10 ⁻³	2,19.10 ⁻⁶	1,48.10 ⁻³
Lactate.....	4,54.10 ⁻⁵	6,77.10 ⁻³	3,16.10 ⁻⁶	1,78.10 ⁻³
Quinate	4,54.10 ⁻⁵	6,77.10 ⁻³	3,16.10 ⁻⁶	1,78.10 ⁻³
Formiate	3,20.10 ⁻⁵	5,66.10 ⁻³	1,56.10 ⁻⁶	1,25.10 ⁻³
Citrate	1,37.10 ⁻⁵	3,70.10 ⁻³	1,06.10 ⁻⁵	3,25.10 ⁻³

Les valeurs de la constante et du degré d'hydrolyse obtenues par les deux méthodes ne concordent pas exactement. Ce fait s'explique par la faible hydrolyse des sels de quinine. Dans ce

(1) J. RÉGNIER, M. ARDITI, S. BAZIN, S. CHANTEREAU : *C. R. Soc. Biol.*, 1941, 135, 1550.

(2) R. JONES et G. I. WHITE : *Am. Chem. J.*, 1910, 44, 159.

cas, en effet, comme nous l'avons indiqué plus haut, la méthode de détermination par le pH, qui ne tient pas compte de l'ionisation de l'eau, ne peut être appliquée sans erreur. Il vaut mieux s'en rapporter aux valeurs obtenues à partir des constantes de dissociation.

2° Sels d'acide fort.

Sels	Titre de la solution	Constante d'hydrolyse	Degré d'hydrolyse	Constante d'hydrolyse	Degré d'hydrolyse
		Valeurs tirées de celles des constantes de dissociation de la base et de l'eau et de la concentration en équivalent gramme de la solution		Valeurs tirées de la concentration en ions hydrogène et de la concentration en équivalent gramme de la solution	
		$K_h = \frac{K_e}{K_b}$	$x = \sqrt{\frac{K_h}{c}}$	$\frac{K_h}{1 - \alpha H^+}$	$x = \sqrt{\frac{K_h}{c}}$
Sulfate	N/400	6,48.10 ⁻⁹	1,61.10 ⁻³	2,54.10 ⁻¹⁰	3,18.10 ⁻⁴
	N/800		2,27.10 ⁻³	1,39.10 ⁻¹⁰	3,33.10 ⁻⁴
	N/1400		3,01.10 ⁻³	1,24.10 ⁻¹⁰	4,17.10 ⁻⁴
	N/2000		3,59.10 ⁻³	1,15.10 ⁻¹⁰	4,80.10 ⁻⁵
Chlorhydrate.....	N/100	6,48.10 ⁻⁹	8,05.10 ⁻⁴	5,75.10 ⁻¹¹	7,58.10 ⁻⁵
	N/250		4,03.10 ⁻⁴	1,73.10 ⁻¹¹	2,14.10 ⁻⁴
	N/500		1,81.10 ⁻³	1,73.10 ⁻¹¹	9,30.10 ⁻⁵
	N/1000		2,52.10 ⁻³	1,82.10 ⁻¹¹	1,35.10 ⁻⁴
	N/2000		3,59.10 ⁻³	2,50.10 ⁻¹¹	2,23.10 ⁻⁴
Bromhydrate.....	N/100	6,48.10 ⁻⁹	8,05.10 ⁻⁴	2,76.10 ⁻¹¹	1,66.10 ⁻⁵
	N/250		4,03.10 ⁻⁴	3,46.10 ⁻¹¹	9,30.10 ⁻⁵
	N/500		1,81.10 ⁻³	2,62.10 ⁻¹¹	1,06.10 ⁻⁴
	N/1000		2,52.10 ⁻³	2,08.10 ⁻¹¹	1,44.10 ⁻⁴
	N/2000		3,59.10 ⁻³	7,96.10 ⁻¹²	1,26.10 ⁻⁴

Ces résultats mettent en évidence les faits suivants :

1° les constantes d'hydrolyse des sels de quinine sont peu élevées, surtout pour les sels minéraux. Les valeurs du degré d'hydrolyse montrent que, même dans le cas du valérianate et du phénylbutyrate, où elle est voisine de 1 %, l'hydrolyse des sels de quinine est trop faible pour fausser les résultats des déterminations de dissociation ionique mesurée par la conductivité. Lorsque la proportion d'acide libéré par hydrolyse est importante elle peut en effet augmenter la valeur expérimentale de la conductivité qui nous a servi pour calculer le degré et la constante

de dissociation. La conductivité Λv du sel non hydrolysé est alors donnée (S. GLASSTONE (111), p. 169 et suivantes) par la formule :

$$\Lambda v = \frac{\Lambda - x \Lambda_A}{1 - x}$$

où

Λ_A = conductivité limite de l'acide.

x = degré d'hydrolyse du sel.

Le calcul nous a montré que la correction apportée est de l'ordre des erreurs de la méthode. Nous n'en avons pas tenu compte.

2° Les sels s'ordonnent selon la série ci-dessous suivant l'importance croissante de leur hydrolyse.

Bromhydrate = chlorhydrate, sulfate, citrate, formiate, quinate = lactate, phénylpropionate, benzoate, phénylacétate, gluconate, isobutyrate, phénylbutyrate, valérianate.

Il semble que l'allongement de la chaîne grasse de l'acide salifiant, ainsi que l'introduction d'un noyau aromatique, favorisent l'hydrolyse. Une acidité minérale, comme on doit s'y attendre, l'empêche.

Des sels d'activité pharmacodynamique différente comme le citrate et le formiate, ou le gluconate et l'isobutyrate, présentent des degrés d'hydrolyse de valeur voisine. Comme pour les sels de para-aminobenzoyldiéthylaminoéthanol, l'hypothèse de O. GROS ne semble pas se vérifier non plus avec les sels de quinine. Si donc, le support de l'activité biologique doit bien être attribué à la base quinine, l'activité variable de ses sels, ne saurait être rapportée aux quantités différentes de base libérées par hydrolyse. Ce facteur peut jouer, sans doute, comme beaucoup d'autres un rôle favorable ou défavorable, principalement lorsqu'il représente la seule variable mise en jeu, ainsi que l'a observé MAYEDA (196), mais il n'explique pas, à lui seul, les faits expérimentaux que nous avons mis en évidence.

Diffusion des sels de quinine dans l'eau distillée et dans les gels.

La rapidité de diffusion d'un corps est en rapport avec la grosseur et la forme de sa molécule. Or ces caractères interviennent dans la capacité de « perméation » à travers la couche limitante cellulaire. Il était donc indiqué d'étudier la rapidité comparative de diffusion de nos divers sels de quinine.

Nous nous sommes adressé pour cela à la diffusion libre dans l'eau distillée et à la diffusion ralentie par un gel.

I. — DIFFUSION DANS L'EAU DISTILLÉE.

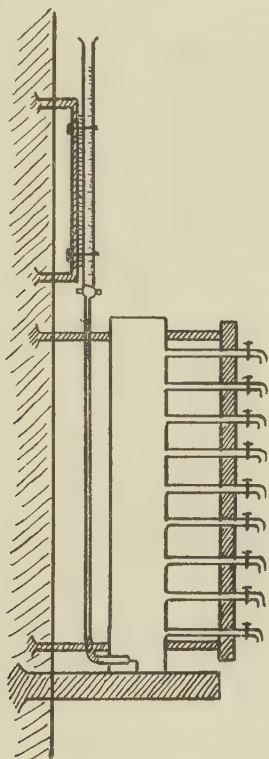
Les mesures de diffusion libre, sont d'après J. DUCLAUX, parmi les plus difficiles qui soient. Si l'on cherche en effet à déterminer avec précision le coefficient de diffusion d'une substance donnée, des irrégularités considérables peuvent résulter de faibles variations de température, provoquant des mouvements de convection susceptibles de brasser le liquide. L'ébranlement de l'appareil par suite des mouvements de l'opérateur et les vibrations transmises par le sol peuvent introduire aussi des erreurs.

Le nombre des méthodes proposées pour mesurer les vitesses de diffusion dans les liquides est très grand et J. DUCLAUX (72) en a fait l'étude critique. Elles sont toutes basées sur l'observation expérimentale suivante :

Si l'on superpose avec précaution dans une éprouvette, deux liquides miscibles de densité différente (par exemple de l'eau et une solution de sulfate de cuivre) la surface de séparation très nette au début, devient floue et est remplacée peu à peu, par une zone de transition de plus en plus large, jusqu'à ce que finalement toute la masse liquide soit homogène. Ce phénomène auquel on a donné le nom de diffusion, se produit en l'absence

de tout mouvement de convection dû à des différences locales de température, et il est très lent.

Le principe expérimental de la méthode la plus souvent employée dite « méthode par division en couches » a été donné par Th. GRAHAM en 1861. Il consiste à superposer deux couches, l'une de solution, l'autre de solvant, à laisser la diffusion se faire et à déterminer par l'analyse, après quelque temps, la concentration aux différentes hauteurs.



C'est à cette méthode que nous nous sommes adressé, sous la forme expérimentale suivante :

Une burette de 25 cc. est fixée sur un support métallique vertical scellé dans un mur de soutien. Elle se prolonge de haut en bas par un tube de verre terminé par un capillaire (comptegoutte normal) qui débouche au milieu du bas d'une éprouvette, graduée sur 50 cm., contenant un litre d'eau distillée de pH =

5,6 — 5,8. Cette éprouvette est scellée sur un support lui-même fixé dans le mur. Elle comporte, diamétralement opposée à l'entrée du capillaire, une série de neuf prises placées de 5 en 5 cm. délimitant des tranches de liquide de 100 cc. Chaque prise est reliée par un tube de caoutchouc à un robinet de verre solidement ajusté sur un support indépendant des précédents et scellé dans le mur. La figure ci-dessus donne la coupe de l'appareil. Trois systèmes semblables, solidaires des mêmes supports, sont placés côte à côte.

Les vibrations sont ainsi réduites au minimum et sont rigoureusement les mêmes pour les trois appareils.

De cette façon, trois expériences comparatives peuvent être faites, soit avec le même sel, soit avec des sels différents. Les variations de température, qu'il n'est possible d'éviter qu'en effectuant les mesures dans une chambre thermostat, sont donc les mêmes pour les trois solutions et amènent vraisemblablement les mêmes perturbations. Leur existence nous interdit de prétendre à la détermination précise du coefficient de diffusion, mais l'appareil nous permet néanmoins de connaître de façon quantitative les différences de vitesse de diffusion et c'est cela seul que nous avons en vue.

Après de nombreux tâtonnements, nous nous sommes arrêté à la technique suivante :

L'appareillage étant propre et sec, on remplit la burette de la solution à faire diffuser et on la fait écouler par le capillaire jusqu'à ce que toute bulle d'air soit éliminée. On ajuste alors le niveau supérieur du liquide au trait 15 cc. de la burette. On lave l'éprouvette par siphonnage, six fois à l'eau ordinaire et trois fois à l'eau distillée. Les robinets de prises sont rincés quatre à cinq fois et l'éprouvette est remplie d'eau distillée. On laisse en repos 24 heures.

L'examen en rayons ultra-violets, avec la lampe Reichert, nous a montré que ce lavage suffit à éliminer toute trace d'alcaloïde, appréciable par fluorescence, et qu'il n'en diffuse pratiquement point par le capillaire.

On fait alors écouler 10 cc. de la solution (jusqu'à la graduation 25 cc. de la burette) pendant 15 à 20 minutes. On obtient ainsi, au bas de l'éprouvette, une couche bien délimitée de la solution à diffuser, comme on peut l'observer en lumière ultra-violette.

On laisse la diffusion se faire pendant 24 heures puis on prélève lentement, à l'aide des robinets de prise, en commençant par le haut, les différentes couches de liquide. La tranche inférieure est soutirée par siphonage.

Trois expériences sont conduites simultanément, l'opérateur réglant, à l'aide des robinets des burettes, les vitesses d'écoulement des solutions à diffuser, pour qu'elles soient sensiblement les mêmes.

On dose ensuite, sur 10 cc. de chaque prise, en comparant à une échelle convenable, soit par le dosage à l'hérapatite en lumière vive que nous avons décrit, soit par la méthode de PRUDHOMME (239). Les prises inférieures sont diluées au 1/10^e. On obtient les résultats en milligrammes de base pour 100 cc.

Nous avons ainsi étudié la diffusion dans l'eau distillée, de solutions aqueuses de nos sels de quinine, par groupe de trois, en comparaison avec le chlorhydrate.

Pour atténuer les différences provenant de l'appareillage ou de la succession des prélèvements, chaque expérience complète (trois essais simultanés) était recommencée trois fois, mais en alternant chaque fois l'ordre des différentes solutions, de telle sorte que chaque résultat partiel soit obtenu avec chacun des montages, avec tout ce que cela comporte comme particularités d'appareil, de situation, d'opération, etc.

Les résultats que nous donnons, sous forme de tableaux ou de courbes, expriment donc les moyennes de trois résultats partiels.

Tranches de 100 cc. de bas en haut	pH = 3	pH = 4	pH = 5
1 ^{re}	6 mgr. 00	6 mgr. 25	5 mgr. 75
2 ^e	0,47	0,44	0,50
3 ^e	0,47	0,43	0,49
4 ^e	0,45	0,41	0,47
5 ^e	0,44	0,41	0,47
6 ^e	0,44	0,41	0,46
7 ^e	0,43	0,41	0,46
8 ^e	0,43	0,40	0,45
9 ^e	0,43	0,40	0,45
10 ^e	0,43	0,40	0,45
Total	9,99	9,96	9,95

Tranches de 100 cc. de bas en haut	pH = 5	pH = 6	pH = 7
1 ^{re}	6 mgr. 50	6 mgr. 50	6 mgr. 50
2 ^e	0,45	0,45	0,45
3 ^e	0,45	0,45	0,45
4 ^e	0,40	0,45	0,40
5 ^e	0,40	0,40	0,40
6 ^e	0,40	0,40	0,40
7 ^e	0,35	0,35	0,35
8 ^e	0,35	0,30	0,35
9 ^e	0,35	0,30	0,35
10 ^e	0,35	0,30	0,35
Total.....	10,00	9,90	10,00

Les tableaux ci-dessus montrent que le pH n'a pas d'influence nettement appréciable sur la rapidité de diffusion d'une solution de chlorhydrate basique de quinine à 1 ‰ de base. Ceci s'accorde avec les résultats que nous avons obtenus, par la même méthode avec J. RÉGNIER (267) pour la novocaïne. La température a varié, au cours de ces expériences entre 15° et 17°.

Les courbes suivantes montrent les résultats obtenus par diffusion de solutions à 1 ‰ de base des sels de quinine, non ajustées au même pH pour ne pas introduire d'autres facteurs de variation.

Nous pouvons en dégager un certain nombre de faits :

1° Bien que les erreurs de dosages pourraient à elles seules expliquer que le total de base retrouvé ne correspond pas à la quantité introduite (10 mgr.), il apparaît une erreur systématique par défaut, comme nous l'avions constaté pour la novocaïne. Ceci est dû sans aucun doute à l'espace mort, constitué par les tubes de prises pleins d'eau distillée, qui dilue d'autant le prélèvement.

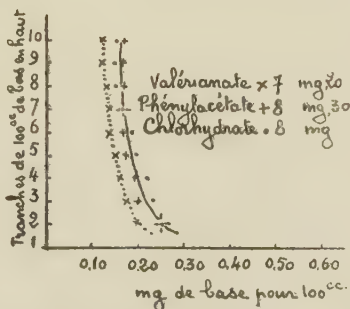
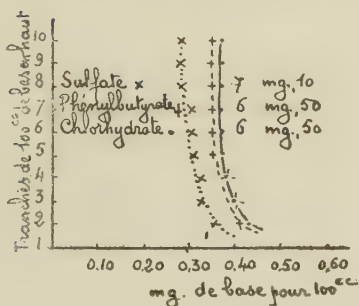
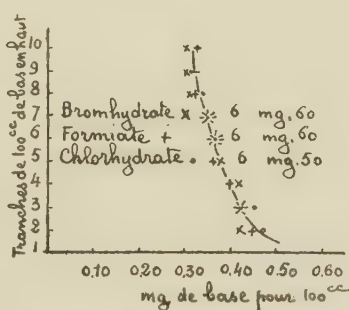
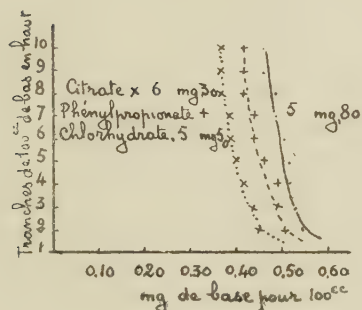
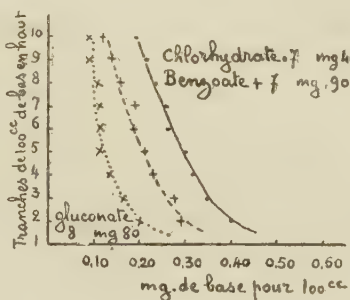
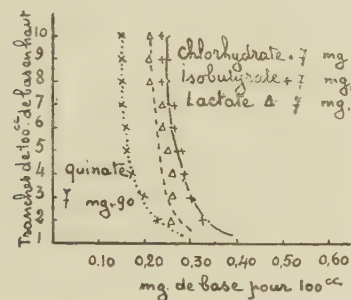
2° Les résultats obtenus dans les diverses séries d'essais, avec le chlorhydrate, sont voisins mais non superposables. Ce fait confirme la nécessité de ne comparer que les résultats d'expériences faites simultanément.

3° La nature de l'acide qui le salifie joue un rôle certain dans la vitesse de diffusion de l'alcaloïde. Les courbes que nous avons tracées permettent de comparer entre elles les hauteurs des

couches dont la concentration en alcaloïde est voisine. On obtient ainsi la série suivante :

Chlorhydrate,
Bromhydrate,
Formiate,
Phénylacétate,
Phénylbutyrate,
Isobutyrate,

qui ont sensiblement la même vitesse de diffusion.



Les courbes Lactate-Chlorhydrate ont été placées avec les courbes Quinate-Isobutyrate-Chlorhydrate, les valeurs du Chlorhydrate pour les deux groupes d'expériences étant voisines.

Les chiffres placés en regard du nom de chaque sel, sont les quantités de base correspondant à la tranche n° 1.

Viennent ensuite :

Valérianate,
Phénylpropionate,
Benzoate et Lactate,
Sulfate,

et enfin :

Quinate, Citrate et Gluconate.

Ceci nous amène aux déductions suivantes :

a) Une fois de plus, la règle de EULER n'est pas vérifiée, à savoir qu'il n'y a pas de relation simple entre le pouvoir de diffusion et le poids moléculaire.

b) En ce qui concerne les sels à acidité minérale, on constate que les halogénures diffusent plus vite que le sulfate. Ceci s'accorde avec ce que de nombreux expérimentateurs ont trouvé, tant en ce qui concerne la vitesse de diffusion des acides eux-mêmes que de leurs sels alcalins. Le chlorhydrate apparaît avoir la plus grande diffusibilité.

c) Les sels des acides aliphatiques diffusent d'autant plus vite que la chaîne est moins longue.

d) Les fonctions alcools et acides libres de l'anion ralentissent considérablement la diffusion de l'alcaloïde.

e) Les résultats que nous obtenons avec les sels de quinine concordent avec ceux que nous avons trouvés, par la même méthode avec les sels du para-aminobenzoyldiéthylaminoéthanol. Rappelons que nous avons constaté, avec J. RÉGNIER, que le chlorhydrate de cette base diffuse plus vite que le phénylpropionate, lui-même plus diffusible que le gluconate, et que le citrate et le benzoate diffusent moins vite que le chlorhydrate.

4^o Examinés, après diffusion, en lumière ultra-violette, les solutions présentent une teinte de fluorescence de même qualité que les solutions mères. Pour préciser notre expression, disons que le liquide de l'éprouvette présente après diffusion la teinte de fluorescence violette de la solution de bromhydrate et la teinte bleue claire de la solution de lactate qui ont diffusé. C'est donc bien le sel dans son entier qui chemine dans le solvant, car s'il en était autrement, par exemple si la base seule ou si une plus grande proportion de cations que d'anions diffusait, la teinte de fluorescence serait modifiée.

L'anion suit donc le cation, en vertu de la loi de neutralité électrique.

II. — DIFFUSION DANS LES GELS (GÉLATINE ET GÉLOSE).

Les mesures de diffusibilité dans les gels sont très nombreuses et ont été faites principalement avec les matières colorantes. La bibliographie très étendue de cette question fait l'objet de chapitres importants dans les ouvrages de J. DUCLAUX (72), F. VLÈS (329), KOPACZEWSKI (155)... Elle a donné lieu à une mise au point critique de LISON et FAUTREZ (178) qui ont précisé les conditions dans lesquelles doivent être déterminées les grandeurs mesurables du phénomène.

Pour J. DUCLAUX, il est aujourd'hui certain que la diffusion dans un gel diffère de la diffusion libre. Il intervient en effet dans ce phénomène de perméation d'une solution au travers une gelée, d'autres processus que celui de diffusion simple, parmi lesquels influent la charge électrique, le gonflement, l'adsorption par le gel, les orientations des interfaces, la structure intime de la gelée, etc...

N. D. KEHAR (140) a déjà étudié la pénétration de la quinine en présence d'électrolytes dans des gels colloïdaux de gélose et de gélatine. Il a constaté que les milieux acides et alcalins déterminent dans les gels une pénétration plus grande des sels de quinine, les sels neutres sont sans action ; les acides ou les alcalis forts ont une action plus considérable que les faibles. Il y aurait un certain parallélisme entre les conditions de pénétration de la quinine dans les gels et la perméabilité des cellules vivantes comme celles de *Chara*.

Nous avons repris cette étude en l'appliquant au problème que nous nous sommes posé.

Les conditions expérimentales ont été les suivantes :

Dans des tubes à essai en pyrex de 14 mm. de diamètre intérieur et exactement calibrés, on a coulé 10 cc. de la solution chaude du gel. On a laissé prendre en masse pendant 24 heures. On a versé dans chaque tube, à la pipette, 5 cc. de la solution à étudier, puis bouché au liège.

On a suivi la profondeur de pénétration dans le gel après 24, 48 et 72 heures, en déterminant la largeur de la bande de diffu-

sion à l'aide des rayons ultra-violetes fournis par la lampe Reichert.

Si, dans le cas des matières colorantes, ainsi que l'ont fort bien mis en lumière LISON et FAUTREZ (178), la mesure de la profondeur de pénétration est faussée par la variation de la limite de visibilité de chaque couleur, il n'en est pas de même ici puisque la couleur fondamentale de fluorescence reste sensiblement la même.

Au surplus, comme dans nos déterminations de diffusion libre, nous n'avons pas cherché à mesurer un coefficient de diffusion, mais simplement à nous faire une idée comparative des différences de vitesse de perméation des divers sels de quinine au travers de gels inertes.

Les mesures sont d'ailleurs rendues très pénibles et assez imprécises par le fait que la gélatine, aussi bien isoélectrique qu'ordinaire, et la gélose, sont légèrement fluorescentes aux rayons ultra-violetes. Les profondeurs de pénétration ont donc été évaluées sur des tubes numérotés dont nous ignorions le contenu, afin d'éliminer autant que possible le facteur personnel.

Trois tubes identiques ont été préparés pour chaque solution et les chiffres que nous présentons sont les moyennes de trois mesures des profondeurs de pénétration en millimètres.

Trois gels ont été étudiés :

1° Gel de gélatine Codex à 10 %.

2° Gel de gélatine isoélectrique (préparée par la méthode de J. SWYNGEDAuw ainsi que nous l'indiquerons au chapitre du gonflement) et à 10 % en gélatine de départ.

3° Gel d'agar-agar à 2 %.

Nous avons déterminé :

a) L'influence de la concentration en base, à l'aide de solutions aqueuses de chlorhydrate basique diversement dosées.

b) L'influence du pH, à l'aide d'une solution de chlorhydrate à 1 ‰ de base ajustée aux pH convenables à l'aide d'acide chlorhydrique ou de soude.

c) L'influence de la température à l'aide d'une solution de chlorhydrate à 1 ‰ de base, portée soit à la glacière (4°), soit à la température du laboratoire, soit à l'étuve (26°).

d) L'influence de l'acide salifiant à l'aide de solutions à 1 ‰ de base.

Nous présentons dans un tableau général les résultats obtenus avec les trois gels. La température du laboratoire fut de 13° pour les essais avec la gélatine Codex et de 15°-16° avec la gélatine isoélectrique et la gélose.

Solutions étudiées avec leur concentration en base quinine	Pénétration de la quinine en millimètres								
	Gélatine Codex à 10 %			Gélatine isoélec- trique à 10 %			Gélose à 2 %		
	24 h.	48 h.	72 h.	24 h.	48 h.	72 h.	24 h.	48 h.	72 h.
Chlorhydrate :									
1/2.000.....	6	11	14	8	13	18	14	22	28
1/1.000.....	8	13	18	12	18	22	15	23	29
1/500.....	9	17	19	14	19	23	18	27	34
1/100.....	12	20	25	17	22	28	26	39	46
Chlorhydrate :									
1/1.000 pH 3....	5	9	13	12	16	20	19	28	36
pH 4....	6	10	13	13	18	22	14	23	30
pH 4,7....	6	10	14	13	18	22	13	23	32
pH 6....	8	14	19	13	21	23	15	24	30
pH 7....	7	11	18	12	18	22	15	24	30
Chlorhydrate :									
1/1.000 4°.....	6	10	15	8	13	18	12	20	27
26°.....	8	15	20	14	19	24	17	25	33
Gluconate.....	7	12	17	9	16	20	12	21	28
Citrate.....	7	12	17	11	17	20	11	21	27
Quinate.....	7	13	17	9	15	19	11	22	28
Sulfate.....	8	14	18	10	16	20	14	23	28
Lactate.....	8	15	18	11	17	21	14	24	30
Bromhydrate.....	7	12	17	12	19	23	14	23	30
Valérianate.....	8	14	19	10	17	21	12	22	28
Isobutyrate.....	8	15	19	11	18	22	15	24	30
Benzoate.....	7	13	18	12	18	22	15	25	30
Phénylacétate.....	8	14	21	12	18	22	15	24	31
Phénylpropionate.....	8	15	20	12	18	22	15	23	29
Phénylbutyrate.....	8	15	20	12	18	22	15	23	29

L'examen du tableau nous amène aux déductions suivantes :
1° La pénétration de la quinine à l'intérieur des trois gels, est d'autant plus grande que la solution est plus concentrée.

2° Dans la zone de pH étudiée (pH = 3 à pH = 7), aussi bien avec la gélatine Codex qu'avec la gélatine isoélectrique, la pénétration croît avec le pH. Pour la gélose, on constate une diffusion plus grande à pH = 3. Pour les trois gels, les différences entre pH = 5 et pH = 7 sont très peu marquées.

3° La pénétration de l'alcaloïde croît avec la température.

4° Dans l'ensemble, étant donnée l'approximation de la méthode, l'influence de l'acide salifiant est peu nette, bien que, dans certains cas, elle corresponde à une variation de concentration en base du simple au double. On reconnaît toutefois deux groupes de sels. Ceux qui diffusent moins que le chlorhydrate, parmi lesquels on note le plus souvent le citrate, le quinate et le gluconate.

Ceux qui diffusent comme, ou plus que le chlorhydrate, parmi lesquels on reconnaît les sels à acides porteurs d'un noyau aromatique.

Ainsi, dans ce cas particulier de la diffusion ralentie par un gel, nous constatons que contrairement à ce que nous avons vu pour la diffusion libre et comme nous le retrouverons dans les expériences qui vont suivre, de dialyse à travers une membrane inerte, le chlorhydrate n'occupe pas de place privilégiée.

Il est possible que dans ce cas la tension superficielle des solutions joue un rôle plus grand.

Les résultats obtenus par J. GUÉNIN (116), dans des expériences similaires poursuivies au laboratoire de J. RÉGNIER, avec les sels de la base novocaïne, sont plus nets.

Bornons-nous à noter, pour l'instant, qu'il semble exister un certain parallélisme entre l'activité pharmacodynamique des sels de quinine et leur facilité de perméation dans les gels, principalement de nature protéique.

Enfin, notons que la teinte de fluorescence des solutions quiniques n'est pas modifiée par leur pénétration dans le gel. Il paraît donc, compte tenu de la précision très relative de cette méthode, que le sel diffuse bien dans son entier.

Passage des sels de quinine à travers les membranes inertes.

J. RÉGNIER (106) a fait remarquer que cinq facteurs physiques principaux sont susceptibles de modifier la répartition ou la concentration des ions de part et d'autre d'un septum inerte et de jouer, par conséquent, un rôle dans les phénomènes de perméabilité :

1° Des forces osmotiques, telles qu'on les envisage au point de vue classique.

2° Des forces de diffusion qui, agissant à travers un septum, sont modifiées :

a) Par la grandeur des pores qui peut jouer un rôle non seulement pour le passage des molécules, mais aussi pour celui des ions ;

b) Par la polarisation de la membrane qui arrête les ions d'un certain signe et laisse passer les autres.

3° Des forces jouant à la limite des phases, amenant, vraisemblablement par condensation superficielle, des fixations par adsorption sur les particules solides, ou des solubilisations dans des liquides d'un plus grand pouvoir solvant.

4° Des forces de gonflement susceptibles de faciliter le passage par élargissement des voies de perméation ou de le ralentir par augmentation de la distance à parcourir.

5° Des forces capillaires dans lesquelles interviennent au premier chef, les phénomènes de tension superficielle.

Il est vraisemblable que tous ces facteurs qui suffisent avec d'autres, de caractère plus purement chimique (ZIPF), à expliquer le mécanisme des échanges à travers les membranes inertes, interviennent au plus haut point, sans suffire à les expliquer complètement, dans les échanges constatés sur la cellule vivante.

Dans ce dernier cas en effet, la vie vient modifier sans cesse la couche limitante et transformer l'action des facteurs purement physiques ou chimiques.

Quoi qu'il en soit, l'étude du passage d'une solution à travers une membrane inerte permettra, par la somme même des facteurs qu'elle représente, de mieux comprendre les phénomènes de perméation à travers la couche limitante cellulaire. C'est pourquoi un très grand nombre de travaux ont porté sur l'étude du passage des différents ions à travers des membranes de constitution et d'origine très diverses. Ils ont permis de mettre en évidence les nombreux facteurs qui interviennent pour modifier les conditions de passage, et que l'on peut grouper sous trois rubriques :

- a) Ceux qui dépendent des conditions extérieures,
- b) Ceux qui sont inhérents à la membrane,
- c) Ceux qui varient avec la solution à étudier.

a) *Influence des conditions extérieures* : le pH et la température exercent une influence nette sur la perméabilité des membranes comme l'ont montré principalement les recherches de MICHAËLIS (202) sur les membranes de gélatine, de MOMMSEN (205) sur les membranes de parchemin, de HRYNAKOWSKI (128) sur les membranes de collodion.

b) *Influence de la membrane* : les travaux de COLLANDER (51) sur le passage des substances non conductrices et des substances faiblement dissociées à travers des membranes de collodion plus ou moins desséchées, selon la technique de BROWN, ont montré que la perméabilité de ces membranes dépend du diamètre des pores.

Les expériences de ZSIGMONDY (337) sur la perméabilité des filtres ultra-fins d'acétate de cellulose pour les substances colorantes ont établi le même fait.

A côté de cette action purement mécanique de la membrane, qui fonctionne comme un filtre, il faut considérer également, comme l'ont montré RISSE (276) et ANSELMINO (8), l'influence du gonflement, l'accroissement de perméabilité due à ce facteur pouvant être contrebalancé par l'augmentation du chemin à parcourir.

Mais il existe surtout, ainsi qu'il ressort de très nombreux tra-

vaux, une perméabilité sélective de la membrane pour les différents ions suivant le signe de sa charge électrique.

Les recherches de MICHAËLIS (202), MOND et HOFFMANN (206), MESTREZAT et GARREAU (197), FUJITA (99), CHANOS (44), GIRARD (110), M^{lle} CHOUCROUN (48), etc... ont mis en évidence que des membranes chargées négativement diminuent la mobilité des ions négatifs, et que des membranes chargées positivement exercent la même action sur les ions positifs.

Il faut envisager encore d'autres facteurs susceptibles d'exercer leur influence, ainsi : la présence, d'après TINKER (315) d'une couche d'eau tapissant les pores très étroits ; l'hydratation des molécules et des ions, comme il ressort des travaux d'Otto BLÜH (28), SCHMENGLER (292), WHITE, MONAGHAN et URBAN (334) ; la diminution de l'hydratation de la membrane, constatée par FRIEDMANN et SHEARER (95) en étudiant la diffusion de l'urée dans les gels de gélatine ; la modification des colloïdes de la membrane montrée par ANSELMINO (8) sur les membranes de gélose ; le glissement plus ou moins facilité au contact de molécules tensio-actives tapissantes bien ou mal orientées, ainsi que l'ont constaté E. DUCLAUX (73), puis BRINKMANN et V. SZENT-GYORGYI (32) ; le vieillissement : en effet, pour BIGELOW et GEMBERLING (20) la perméabilité des membranes de collodion serait fortement diminuée au bout de plusieurs semaines.

c) *Influence de la solution à étudier.* — Nous ne nous occupons ici que des solutions alcaloïdiques qui ont fait l'objet, principalement en ce qui concerne les bases anesthésiques locales, de très nombreuses recherches.

Plusieurs auteurs ont étudié le passage de celles-ci à travers des membranes lipoidiques et ils ont obtenu des résultats qui viennent à l'appui de la théorie de MEYER-OVERTON : en particulier FOURNEAU et ses collaborateurs FOUARD (91), SAMDAHL (92), VULQUIN (93) et aussi R. THIEULIN (313), J. SIVADJIAN (304) ont expérimenté sur des membranes de collodion riciné additionnées ou non de lécithine et de cholestérol. En général, les vitesses de passage s'ordonnent selon les activités anesthésiques.

Nous avons déjà, sous la direction de J. RÉGNIER étudié avec A. FIEYRE (268) le passage des bases anesthésiques locales au travers d'une membrane de cellophane et nous avons constaté,

avec la base de la novocaïne, que l'acide salifiant modifie la vitesse de perméation de l'alcaloïde. Mais la série obtenue dans ce cas ne s'accorde pas exactement avec l'activité pharmacodynamique, puisque le chlorhydrate, d'activité moyenne, dialyse plus rapidement que les autres sels.

Nous avons repris pour étudier le passage des sels de quinine à travers une membrane inerte, l'appareillage mis au point dans ces recherches en l'adaptant aux conditions des expériences. Cet appareil réalise un dialyseur multiple à agitation continue. F. VLÈS (328) a constaté en effet, qu'au point de vue expérimental, il faut agiter tout le temps deux solutions en contact pour avoir de bons résultats. Il comprend essentiellement les pièces suivantes :

Un tube en U en pyrex, constitué de deux demi-tubes à évasements rôdés, d'un diamètre intérieur de 3 cm. et d'une capacité totale d'environ 200 cc., est traversé par une membrane de cellophane dans sa partie médiane. L'étanchéité du système est assurée par un serrage à vis de la membrane entre les extrémités rôdés des parties horizontales de deux demi-tubes. L'appareil de serrage, métallique, permet également de fixer le dispositif sur un support. Quatre appareils semblables sont placés parallèlement côte à côte. Huit agitateurs de verre, à extrémités aplaties, suspendus à un cadre métallique commun, mû par un moteur électrique, agitent verticalement, au même rythme régulier (70 oscillations par minute) le contenu des 8 branches des 4 tubes en U.

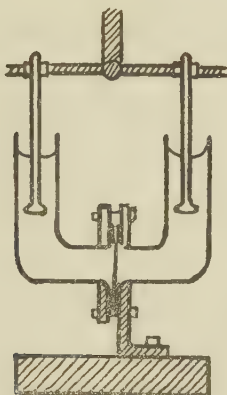
Ainsi pouvons-nous comparer entre eux les résultats donnés par 4 expériences simultanées, effectuées dans les mêmes conditions extérieures, notamment de température. Comme nous l'avons vu, en effet, avec les bases anesthésiques locales, l'élévation de température augmente la vitesse de passage.

Les membranes de cellophane utilisées provenaient d'une feuille n° 300, à 30 gr. au mètre carré, ayant une épaisseur approximative de 0,02 mm. Cette feuille est constituée par de la cellophane pure. On sait qu'il s'agit d'un hydrate de cellulose régénéré de la viscose qui comporte habituellement : 12 % de glycérine, 7 à 8 % d'eau suivant l'humidité relative de l'atmosphère, le reste de cellulose pure, sauf 0,2 à 0,3 % de matières minérales après calcination, dont des traces de soufre (soit 0,05 % environ).

La porosité de la cellophane est très faible, puisque le diamètre des pores est de l'ordre du centième de micron.

La cellophane, avec toutes les propriétés de la cellulose pure est imperméable aux graisses, aux huiles, hydrocarbures, est perméable aux cristaalloïdes et laisse diffuser toutes les solutions aqueuses ou miscibles à l'eau.

Avant d'être serrée entre les deux demi-tubes, la membrane, de dimensions convenables, était tendue, après passage dans l'eau distillée, sur la partie rôdée de l'un d'eux et solidement ficelée.



L'appareil étant monté, on vérifiait par introduction de 100 cc. d'eau distillée exactement mesurés dans la partie gauche de chaque tube, qu'il n'y avait pas de fuite. Puis on mesurait dans la partie droite de chaque tube 100 cc. de la solution alcaloïdique en expérience et l'on commençait immédiatement l'agitation.

On effectuait des prélèvements dans la partie gauche après des temps de dialyse déterminés. Pour ne pas apporter d'erreur par variation de pression hydrostatique de part et d'autre de la membrane et par élimination d'une trop grande partie de la quantité d'alcaloïde diffusée, nous avons expérimenté avec des solutions aqueuses à 1 ‰ en base quinine et effectué des prélèvements de 1 cc. seulement. Les faibles quantités de quinine dosables nous ont ameneré à utiliser la méthode colorimétrique de PRUDHOMME (239) que nous avons mise en œuvre de la façon suivante :

On préparait extemporanément une gamme colorée à l'aide d'une solution de chlorhydrate basique de quinine à 1 pour dix mille de base. Dans 29 tubes on versait respectivement : 0,10 cc. 0,15 — 0,20 — 0,25 — 0,30 — 0,35 — 0,40 — 0,45 — 0,50 — 0,55

— 0,60 — 0,65 — 0,70 — 0,75 — 0,80 — 0,85 — 0,90 — 0,95 —
1 cc. — 1,05 — 1,10 — 1,15 — 1,20 — 1,25 — 1,30 — 1,35 — 1,40
— 1,45 — 1,50 de cette solution. On complétait tous les tubes à
10 cc. avec de l'eau distillée. Le prélèvement de 1 cc. était versé
dans un tube semblable et dilué au 1/10^e par addition de 9 cc.
d'eau.

Dans tous les tubes on ajoutait :

- 2 cc. de solution tampon de Sörensen concentrée,
- IV gouttes de solution d'éosine à 2 %,
- 3 cc. de chloroforme.

Après agitation et repos de 4 heures on soutirait la partie aqueuse et versait la partie chloroformique dans de petits tubes exactement calibrés que l'on bouchait au liège.

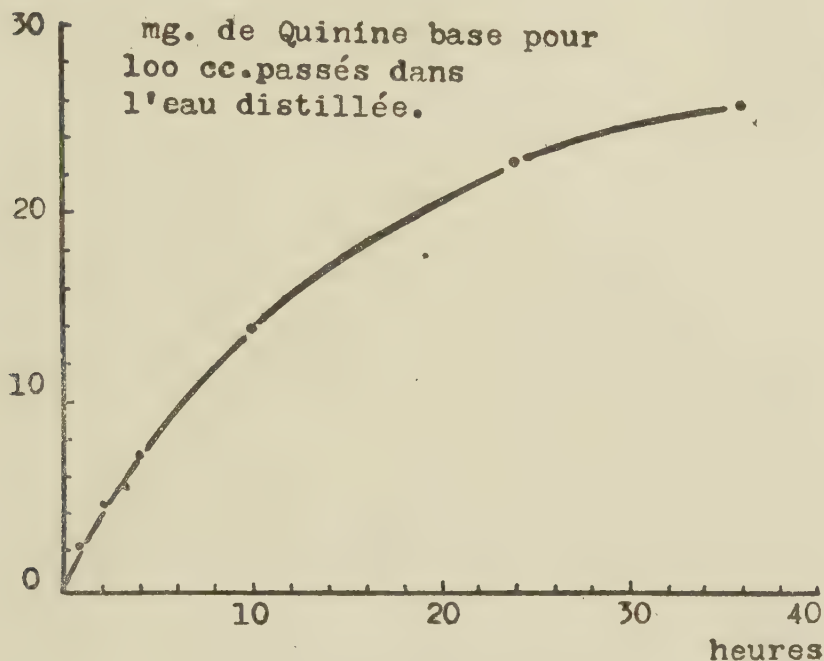
On avait ainsi une gamme allant de 0,10 mgr. à 1,50 mgr. de base quinine pour 100 cc. Mais le prélèvement étant dilué au 1/10^e, on multipliait par 10 le résultat trouvé par comparaison. Pratiquement, on admettait que la gamme représentait par rapport au tube à comparer des quantités de base quinine allant de 1 à 15 mgr. pour 100 cc. Ce volume étant égal à celui du liquide dans lequel le sel alcaloïdique diffusait, on avait donc directement la concentration en base quinine dans le tube gauche au moment du prélèvement.

Après quelques expériences, au lieu de construire toute la gamme nous ne préparions que les tubes correspondant à des concentrations voisines de celle du liquide à doser, et nous passions au colorimètre.

En règle générale, quatre solutions diverses étaient étudiées en même temps dans les 4 dialyseurs. On faisait 4 expériences de façon que chaque solution ait dialysé dans chacun des tubes et l'on faisait la moyenne arithmétique. Ainsi les conditions extérieures étant rigoureusement les mêmes, en étudiant une solution de référence (chlorhydrate) à chaque groupe d'essais, on pouvait les comparer entre eux.

Nous avons étudié en premier lieu, par une expérience très prolongée, le passage du chlorhydrate de quinine. La courbe ci-dessous, d'allure parabolique, exprime les résultats obtenus à l'aide de 4 expériences. On a porté en ordonnées les concentrations en mgr. de base quinine pour 100 cc. dans le tube gauche,

en abscisses les temps de dialyse. Cette courbe se rapproche de celles qui ont été tracées avec les anesthésiques locaux et dont KOSTITZIN (157) a fait l'étude mathématique.



Passage contre l'eau distillée, d'une solution de Chlorhydrate basique de Quinine à 1 ‰ de base, au travers d'une cellophane à 30 gr./m².

Si l'on compare la rapidité de passage de la quinine à celle des bases anesthésiques locales dans les mêmes conditions, on constate que ces dernières passent beaucoup plus vite. Il y a là sans doute, soit une influence du poids ou de la dimension moléculaires beaucoup plus grandes pour la quinine, soit une action, sur la perméabilité de la membrane, du noyau quinuclidique et de la fonction alcool secondaire de cet alcaloïde (*).

Nous avons, en second lieu, étudié avec le même sel, l'influence de la concentration. Le tableau ci-dessous montre que, comme

(*) La percaïne, qui passe beaucoup plus vite que la quinine, possède, en effet comme cet alcaloïde, un noyau quinoléique, mais pas de noyau quinuclidique ni de fonction alcool.

avec la novocaïne, la quantité dialysée est d'autant plus grande que la concentration de la solution en expérience est plus forte.

Temps de dialyse	Base quinine en milligrammes pour 100 cc.			
	10 ‰	5 ‰	1 ‰	0,5 ‰
2 heures	25	16	5	2,5
4 heures	33	22	7	3,5
6 heures	40	26	8	4,5
8 heures	50	33	11	5

Dans une troisième série d'expériences, nous avons étudié l'influence de la variation du pH sur la vitesse de passage d'une solution de chlorhydrate de quinine à 1 ‰ de base, en réglant aux pH considérés avec l'acide chlorhydrique ou la soude. Les deux tableaux suivants donnent les résultats obtenus à partir de 4 expériences.

Temps de dialyse	Base quinine en milligrammes pour 100 cc.			
	pH 3	pH 4	pH 5	pH 5,5
2 heures.....	4,7	5,9	5,1	4,9
4 heures.....	7,5	8,1	7,7	7,1
6 heures.....	10,0	10,6	11,2	9,5
8 heures.....	11,2	12,2	12,2	11,3

Temps de dialyse	Base quinine en milligrammes pour 100 cc.			
	pH 5,5	pH 6	pH 6,5	pH 7
2 heures.....	5,2	4,4	4,2	4,3
4 heures.....	7,3	6,7	6,0	6,7
6 heures.....	9,5	8,5	8,0	8,0
8 heures.....	11,7	10,5	9,3	10,0

Si, au premier abord, on remarque que les chiffres donnés par les deux séries d'expériences pour le pH 5,5 (terme de comparaison) ne sont pas rigoureusement superposables, ce qui trouve son explication dans les différences de conditions extérieures, ils sont dans ce cas, assez voisins pour permettre une vue d'en-

semble. La courbe tracée, pour chaque temps de dialyse, en fonction du pH, montre que la réaction du milieu influence nettement le passage de l'alcaloïde dont la vitesse de perméation passe par un maximum vers pH 4 — 5 et par un minimum vers pH 6,5. La quinine ne se comporte pas, là encore, comme les anesthésiques locaux puisque nous avons vu pour la novocaïne, une diminution régulière de la vitesse de passage quand le pH diminue.

Pour comparer, par cette méthode, les différents sels de quinine, nous n'avons pas réglé au même pH pour la raison maintes fois exprimée de ne pas faire intervenir des modifications de tension superficielle par addition d'acides, susceptibles de compliquer encore les phénomènes.

Dans les tableaux ci-dessous, on trouvera les résultats obtenus en comparant dans chaque série d'expériences, les autres sels de quinine au chlorhydrate pris comme référence. Chaque chiffre représente la moyenne de 4 essais, chaque sel ayant été expérimenté dans chacun des tubes du dialyseur.

Temps de dialyse	Base quinine en milligrammes pour 100 cc.			
	Chlorhydrate	Bromhydrate	Benzoate	Sulfate
2 heures.....	5,2	5,2	4,2	3,0
4 heures.....	7,8	7,8	6,0	4,0
6 heures.....	9,5	9,3	7,0	4,7
8 heures.....	11,5	11,3	8,5	5,3
	Chlorhydrate	Phénylacétate	Phénylpropionate	Phénylbutyrate
2 heures.....	5,5	4,3	4,2	4,1
4 heures.....	8,2	5,6	5,4	5,4
6 heures.....	12,1	7,6	7,2	7,2
8 heures.....	13,2	9,0	9,0	8,3

Les solutions expérimentées étaient toutes à 1 ‰ de base et présentaient, après dilution convenable, la même teinte par la méthode colorimétrique à l'éosine.

Temps de dialyse	Base quinine en milligrammes pour 100 cc.			
	Chlorhydrate	Formiate	Isobutyrate	Valérianate
2 heures.....	4,1	3,9	3,5	3,4
4 heures.....	6,0	5,8	4,7	4,3
6 heures.....	10,0	9,2	7,5	6,5
8 heures.....	11,5	10,7	9,0	8,0

	Chlorhydrate	Lactate	Quinate	Gluconate	Citrate
2 heures.....	4,7	3,6	3,2	2,9	2,2
4 heures.....	6,5	5,3	4,3	4,0	3,0
6 heures.....	10,0	8,5	6,6	6,5	4,6
8 heures.....	13,0	9,6	8,2	7,6	5,3

L'examen des chiffres et principalement la comparaison des courbes que l'on en peut tracer nous amènent aux conclusions suivantes :

1° La nature de l'acide qui la salifie influence nettement la vitesse de passage de la quinine puisqu'elle peut, dans certains cas, être plus que doublée (citrate-chlorhydrate).

2° Le chlorhydrate et le bromhydrate passent nettement plus vite que les autres sels. La comparaison des courbes permet en effet de constater que lorsqu'il passe 10 mgr. de base quinine sous forme de chlorhydrate, il en passe :

10	sous forme de bromhydrate,
9,3	— formiate,
7,7	— isobutyrate,
7,7	— lactate,
7,5	— benzoate,
7,0	— phénylacétate,
6,7	— valérianate,
6,6	— phénylpropionate,
6,5	— quinate,
6,4	— phénylbutyrate,
6,3	— gluconate,
4,8	— sulfate,
4,4	— citrate.

Cette série se rapproche assez de celle des poids moléculaires.

Notons la grande différence de vitesse de passage des trois sels à acides minéraux, le sulfate passant moitié moins vite que les deux autres. Cette observation s'accorde avec toutes les données de la littérature concernant la vitesse de passage des sels alcalins, fait retrouvé récemment par G. LOISEL (182) pour les membranes de ferrocyanure de cuivre. L'allongement de la chaîne grasse des acides aromatiques et aliphatiques, et la présence de fonctions alcools diminuent la vitesse de perméation.

4° Enfin, c'est bien le sel dans son entier qui passe, ainsi qu'il l'a été constaté avec la novocaïne et comme l'expérience suivante le démontre avec le chlorhydrate de quinine.

Dans les 4 tubes en U, on a mis à dialyser, contre l'eau distillée, la même solution de chlorhydrate basique à 1 ‰ de base.

Au bout de 2 heures on a prélevé la totalité du contenu de la partie gauche du tube n° 1. On a fait de même après 4 heures pour le tube n° 2, après 6 heures pour le tube n° 3 et après 8 heures pour le tube n° 4.

Sur 1 cc. de chaque prélèvement, on a dosé la base comme précédemment par colorimétrie. Sur 50 cc. on a dosé l'ion Cl par la méthode de CHARPENTIER-VOLHARD. Pour cela, la prise de 50 cc. étant versée dans un Erlenmeyer, on a ajouté 5 cc. de NO_3Ag N/50 exactement mesurés et 1 cc. de NO_3H pur. On a filtré, lavé et ajouté aux liqueurs 5 cc. de NO_3H et 40 gouttes d'alun de fer. On a titré avec SCN NH_4 N/50. Le virage est assez difficile à saisir, mais peut se déterminer par transparence.

On a trouvé :

Pour le tube n° 1 :	4,7 cc. SCN NH_4 N/50
n° 2 :	4,4 cc. —
n° 3 :	4,2 cc. —
n° 4 :	4,0 cc. —

A partir des quantités de Cl trouvées à l'aide de ces chiffres expérimentaux, on a calculé la quantité de base correspondante sachant que dans le sel 35,5 de Cl correspondent à 324 de quinine anhydre. On a ramené à 100 cc.

Le tableau ci-dessous donne les résultats obtenus par voie directe (colorimétrie) et par voie indirecte (CHARPENTIER-VOLHARD).

Temps de dialyse	Base en milligrammes pour 100 cc.	
	Colorimétrie	Charpentier-Volhard
Tube n° 1-2 heures	5	4
Tube n° 2-4 heures	8	8
Tube n° 3-6 heures	10	10
Tube n° 4-8 heures	12,5	13

La concordance des chiffres, étant données les erreurs possibles des dosages, est assez satisfaisante pour montrer que l'ion chlore et l'ion quinine passent en même temps. L'examen des teintes de fluorescence, qui est la même pour la solution et son dialysat confirme d'ailleurs cette expérience.

Gonflement de la gélatine.

Comme nous l'avons déjà vu, RISSE (276) a attiré l'attention, en 1926, sur le fait que la perméabilité des membranes dépend de leur degré de gonflement. Dans les processus de perméation des substances dissoutes à travers la membrane limitante, les phénomènes de gonflement ont donc une place importante. Ils ont suscité un très grand nombre de recherches la plupart dirigées vers l'étude du gonflement de gels divers en présence de solutions minérales. En regard, peu de travaux ont porté sur l'étude des solutions alcaloïdiques.

En 1891, HOFMEISTER (126) a publié les résultats d'un travail fondamental pour le problème que nous étudions ici. Examinant le gonflement de la gélatine, il constata des différences suivant l'acide combiné à une même base alcaline et établit que les sels s'ordonnent en activité décroissante selon la série : sulfocyanure, iodure > chlorate > nitrate > chlorure > acétate, sulfate > citrate, tartrate.

OSTWALD (224) retrouva en 1906, une série analogue avec les acides eux-mêmes. Plus tard MARTIN FISCHER (88), SOMOGYI (305), VON KÜTHY (162) confirmèrent ces premières recherches en les étendant à un plus grand nombre d'acides ou de sels alcalins.

LOEB (181), contrairement à tous ces auteurs qui accordaient à l'acide une importance particulière, affirma que la loi de valence règle seule le phénomène, deux acides monovalents ayant une action identique, et que, quel que soit l'acide en cause, seule la variation du pH est à considérer. Le point isoélectrique de la gélatine étant à 4,7, il admit que du côté acide de ce point, le protide se combine à l'anion et que du côté alcalin il se combine au cation. Ce serait donc par suite de cette combinaison engendrant des ions à fort pouvoir osmotique que le pH agit sur le

gonflement. Comme PROCTER et WILSON (237), en effet, LOEB pensait que le gonflement d'un gel est produit par la pression osmotique des ions combinés au protide.

Depuis, les résultats et les conceptions de LOEB furent critiqués. On retrouva de façon non discutable, à pH égal, des rangées analogues à celles de HOFMEISTER et l'on s'aperçut que LOEB avait travaillé sur des solutions diluées. MICHAËLIS (201) en vint ainsi à la conception suivante :

La plupart des effets provoqués par les ions dans les systèmes colloïdaux peuvent être rattachés à deux actions. Les uns dépendent d'une adsorption (ce terme étant conçu dans son sens le plus large) et par là dépendent surtout de l'état électrique de l'ion, par conséquent du signe de sa charge, de sa valence, sans qu'interviennent les propriétés chimiques spécifiques de l'ion : ce sont ces effets, prépondérants en solution diluée, qu'aurait étudiés J. LOEB. Les autres, et ce sont les effets envisagés par HOFMEISTER et à sa suite par les autres auteurs, dépendent de l'influence exercée par les ions non plus sur le colloïde mais sur le milieu liquide intermédiaire dont la modification réagit sur l'état du colloïde. Or, ces actions sur le solvant, ces propriétés « lyotropiques » sont liées aux qualités spécifiques de l'ion et en particulier à son pouvoir d'hydratation, et se feraient surtout sentir aux fortes concentrations. Ainsi se trouveraient mises d'accord l'une et l'autre des conceptions envisagées.

Pour NASSONOV (216) la quantité d'eau absorbée par la gélatine (mesurée par les variations de volume du gel) est la même à condition que la concentration en eau des solutions gonflantes soit égale (c'est-à-dire que les substances étudiées soient en concentration égale mesurée en volumes). Mais cette règle, dite de l'« isohydrie » est inapplicable aux solutions concentrées et aux substances superficiellement actives.

En dehors des travaux qui ont porté sur l'influence de non électrolytes comme l'urée (CHODAT (46), HEIM (121)...), le glucose, le saccharose, etc... signalons les recherches poursuivies dans un but plus spécialement pharmacodynamique.

ABELIN (1) a étudié les variations de la tension superficielle de la phényléthylamine et de ses sels en regard des différents gonflements de la gélatine produits par ces solutions ; il a admis ainsi un parallélisme absolu entre la tension superficielle des substances narcotiques et le degré de gonflement qu'elles

provoquent sur la gélatine. Mais ces faits admis à nouveau par KNOEVENAGEL (146) ont été contestés, pour la morphine, par KOPACZEWSKI (154).

SCHRYVER (296) a montré que dans certaines conditions les narcotiques peuvent empêcher la formation de gelée. J. TRAUBE (318) a trouvé que ces substances augmentent la capacité de gonflement affirmant ainsi l'importance de ce phénomène dans la narcose ainsi que l'a signalé R. HÖBER (124).

Mais la gélatine n'a pas été le seul substrat utilisé. Si les travaux de GELLHORN (105), de BUCHNER et POSTMA (35), de JORDAN-LLOYD (179) portent sur le gonflement des colloïdes protéidiques, Lise EMERIQUE (75) a étudié l'imbibition de l'ovalbumine coagulée et de la mucine des œufs de Grenouille. L. LAPICQUE (163), D. KOHLER (149), KOPACZEWSKI (154) se sont adressés aux laminaires, KOCHMANN (147), LOEB (180), HÖBER (124), OELKERS (222), WESSEBERGE (333) et bien d'autres ont travaillé sur le muscle, L. LAPICQUE et LEGENDRE (164), S. KOMAROV (151) sur le nerf, J. GUÉNIN (116) sur les cordes à raquette, MARTIN FISCHER (88) sur la fibrine (*), etc...

Toutefois, parmi les gels inertes, la gélatine paraît donner les résultats les plus sûrs en raison de son homogénéité, de la facilité relative avec laquelle on peut obtenir des prises de même poids et de même dimensions, c'est pourquoi nous avons choisi ce gel pour étudier l'action gonflante des solutions aqueuses de nos sels de quinine.

Pour suivre l'imbibition d'un gel, trois méthodes peuvent s'employer. Lorsqu'on plonge en effet un morceau de gélatine dans l'eau, le gel augmente peu à peu de volume et de poids alors que le volume du liquide diminue. On peut donc :

1° Mesurer la diminution de volume du liquide après avoir retiré le morceau de gélatine.

2° Déterminer le volume du gel selon la technique de NASSONOV (216) par exemple.

3° Peser le gel avant et après gonflement.

(*) On trouvera d'utiles renseignements sur cette question dans les publications de KÜHN (159) et KÜNTZEL (161) et les conférences publiées par la section anglaise de la Société internationale des chimistes marchands de cuir (129).

C'est cette méthode, indiquée par OSTWALD (225), utilisée par de nombreux auteurs, que nous avons adoptée.

Elle permet d'obtenir des résultats assez constants à condition d'observer certaines règles très strictes, à savoir :

a) partir d'échantillons de forme et de poids aussi semblables que possible. Le gonflement relatif est en effet d'autant plus fort que le poids de départ est plus faible ;

b) opérer toujours par comparaison afin de se mettre à l'abri des causes de variation extérieures à l'expérience, ainsi le gonflement relatif croît avec la température ;

c) sécher soigneusement les morceaux de gel à la sortie de la solution, avec du papier filtre doux, de façon à enlever le liquide superficiel sans entraîner en même temps le gel.

La mesure du gonflement est naturellement exprimée par l'augmentation de poids du gel rapportée à 100 gr. de substance initiale.

L'augmentation du poids en fonction du temps obéit à une loi de forme exponentielle. Nous avons arrêté nos essais à la 24^e h., durée suffisante pour avoir des différences de gonflement bien mesurables et assez restreinte pour éviter une hydrolyse du gel que l'on risque alors d'entraîner sur le papier filtre.

Les blocs de gélatine ont été mis à gonfler dans des cristallisoirs en verre de 60 mm. de diamètre et de 30 mm. de haut, en présence de 50 cc. de liquide. Certains échantillons se collent au fond du vase dans les premières minutes d'immersion. Il faut les détacher et vérifier leur mobilité de temps à autre avec une baguette de verre sous peine d'obtenir des résultats erronés. Il est bon également de recouvrir les cristallisoirs d'une plaque de verre pour éviter l'évaporation de l'eau.

Malgré ces précautions, il faut compter, ainsi que nous avons eu l'occasion de l'observer en faisant gonfler des feuilles de gélatine aussi semblables que possible dans des solutions identiques, sur une erreur possible de 5 %.

Nous présentons, en premier lieu, les résultats que nous avons obtenus avec des feuilles de gélatine du commerce, répondant, comme nous l'avons vérifié, aux exigences du Codex et que nous découpons en petites plaques pesant exactement 0 gr. 100.

Les chiffres présentés expriment les moyennes de plusieurs essais (trois ou quatre) effectués dans les mêmes conditions à la

température du laboratoire. Ils traduisent le gonflement relatif des blocs par l'augmentation de poids pour cent après 24 heures d'immersion. Comme toujours les concentrations s'entendent en base anhydre.

A) *Influence de la concentration.* — Nous avons fait gonfler les blocs de gélatine en présence de solutions de chlorhydrate basique de concentrations variables.

Concentration en base quinine de la solution de chlorhydrate	Gonflement %
Eau distillée	780
1/5.000	792
1/2.000	794
1/1.000	760
1/500	725
1/100	747

Les résultats du tableau ci-dessus montrent que la quinine empêche l'imbibition de la gélatine par l'eau. Les différences en plus rapportées avec les doses 1/5.000 et 1/2.000 de base peuvent être, en effet, attribuées aux erreurs d'expériences. Par contre il apparaît nettement un minimum à la dose 1/500. Cet alcaloïde ne se conduit donc pas de ce point de vue comme les bases anesthésiques locales. Rappelons que, dans un travail effectué sous la direction de J. RÉGNIER, nous avons observé avec J. GUÉNIN (116), que celles-ci favorisent le gonflement et d'autant plus que leur concentration est plus grande.

B) *Influence du pH.* — A l'aide d'une solution de chlorhydrate à 1 ‰ de base, que nous avons ajustée à pH divers par addition convenable d'acide chlorhydrique ou de soude, nous avons observé, conformément aux données de la littérature, un minimum de gonflement aux environs du point isoélectrique du gel.

pH de la solution de chlorhydrate de quinine à 1 ‰ de base	Gonflement %
3	2.200
4	845
4,8	637
5,5	735
6	810
6,5	905
7	985

C) *Influence de l'acide combiné à la quinine.* — Ainsi que le montrent les résultats ci-dessous, à 1 $\frac{o}{oo}$ de base, concentration pour laquelle nous avons pu étudier tous les sels, comme à 1 % de base, les différences constatées n'ont jamais dépassé les erreurs possibles de la méthode et ne sont pas apparues systématiques, sauf en ce qui concerne le citrate et l'isobutyrate. Or le pH des solutions de ces deux sels suffit à expliquer le sens des variations observées.

Solutions à 1 % de base	Gonflement %	Solutions à 1 $\frac{o}{oo}$ de base	Gonflement %
Lactate	732	Citrate	547
Bromhydrate.....	740	Sulfate	595
Valérianate.....	743	Bromhydrate.....	597
Gluconate	745	Benzoate	597
Chlorhydrate.....	755	Phénylpropionate..	597
Formiate.....	755	Chlorhydrate.....	600
Quinate	760	Valérianate.....	600
Isobutyrate	763	Quinate	602
		Lactate	602
		Phénylbutyrate ...	605
		Gluconate	607
		Phénylacétate	610
		Formiate.....	617
		Isobutyrate	622

Il apparaît donc que le phénomène de gonflement n'entre pas en ligne de compte, ou fort peu, dans le processus de perméation de la quinine et que l'acide qui la salifie, n'a pas d'influence appréciable. Ces faits s'opposent à ceux que nous avons observés avec J. RÉGNIER et J. GUÉNIN avec les sels de la base de la novocaïne. Dans ce cas en effet, l'imbibition du gel est plus grande que dans l'eau et certains sels favorisent (Phénylpropionate, benzoate) ou empêchent (Citrate, salicylate) le gonflement.

Toutefois, il apparaît que ces expériences poursuivies avec la gélatine ordinaire qui contient des sels (environ 1,5 %) ne traduisent pas un phénomène d'imbibition à l'état pur, mais plutôt un phénomène osmotique. Il y a échange de liquide et d'ions entre deux phases séparées par le gel. C'est pourquoi dans une seconde série d'expériences, nous avons fait gonfler dans les

mêmes conditions des blocs de gélatine isoélectrique que nous avons préparée en nous appuyant sur la méthode préconisée par J. SWYNGEDAÛW (309).

Les données techniques de cette préparation n'étant pas exactement les mêmes que celles de la méthode originale, nous allons l'exposer en détail à seule fin de définir ainsi le gel que nous avons employé. Nous avons une batterie d'accus qui pouvait nous donner 40-80 et 120 volts en courant continu. Nous avons donc adapté la préparation de la gélatine isoélectrique à l'appareillage dont nous disposions.

PRÉPARATION DE LA GÉLATINE ISOÉLECTRIQUE.

Une solution chaude à 30 % de gélatine Codex, préparée au bain-marie, est versée dans des bacs de verre de 200 mm. de long sur 150 mm. de large, afin de donner un gâteau de 20 mm. d'épaisseur. Après gélification, on creuse à chaque extrémité une rigole de 10 mm. de profondeur à 2 cm. environ du bord large de la cuve. Les rigoles étant pleines d'eau distillée on plonge dans chacune un fil de platine de 110 mm. de long tendu entre les branches d'un agitateur de verre courbé en U ; l'un des fils sert de cathode, l'autre d'anode. Le courant est ainsi réparti dans toute la largeur du gâteau de gélatine.

On fait passer le courant continu d'abord sous 40 volts, puis sous 80 volts de façon que l'intensité ne soit pas supérieure à 30 milliampères en tout. Au bout de 6 heures, on applique 120 v. et on abandonne le gel, couvert pour limiter l'évaporation, pendant 72 heures à l'électrolyse. Ainsi la gélatine ne chauffe pas exagérément pendant les premières heures. On ajoute de temps à autre de l'eau distillée dans les rigoles. On observe au bout de quelques heures la formation d'une limite très fine qui sépare la zone isoélectrique du reste du gel. Au voisinage de chaque électrode, le gel subit un gonflement localisé qui s'accroît très lentement au cours de l'électrolyse. Vers la fin de l'opération, la dépression s'étend de plus en plus lentement à cause de la réduction progressive du courant, résultant de l'augmentation de résistance de la préparation.

Après 72 heures la zone isoélectrique ne s'étend plus et on démoule la région centrale isoélectrique très légèrement dégon-

flée, que l'on distingue facilement des bourrelets acides et alcalins qui en sont séparés par une ligne très finement tracée.

On découpe avec une lame d'os, de petits cubes du gel et on les dessèche sous vide en présence de Cl_2Ca jusqu'à poids sensiblement constant, c'est-à-dire ne différant pas plus de quelques milligrammes. On sait en effet (KOPACZEWSKI (155)) qu'il est pratiquement impossible d'obtenir, par ce procédé, de la gélatine parfaitement sèche.

Le gel isoélectrique ainsi obtenu contient, d'après nos déterminations, 10 % d'eau environ et 0,02 % de cendres. Il a un pH de 4,9-5,0 au rouge de méthyle.

Bien que tous les blocs d'un même lot aient été desséchés dans les mêmes conditions, les erreurs de la méthode sont un peu plus grandes qu'avec la gélatine ordinaire. Ceci provient de la difficulté qu'il y a à préparer des prises de même poids et de même forme et aussi peut-être à une dessiccation inégale.

Les blocs que nous avons fait gonfler pesaient environ 1 gr. Les résultats que nous avons obtenus, comme on le verra ci-dessous, ont confirmé dans l'ensemble ceux que nous avait donné l'étude de la gélatine ordinaire.

a) *L'influence de la concentration*, étudiée avec le chlorhydrate basique, n'a pas donné de résultats constants. Les chiffres ci-dessous ne permettent pas d'attribuer une influence quelconque à la quinine dans le processus de gonflement :

Concentration en base quinine de la solution de chlorhydrate	Gonflement %
Eau	188
1/5.000.....	191
1/2.000.....	198
1/1.000.....	180
1/500	190
1/100	180

b) *L'influence du pH est plus nette.* — Etudiée avec une solution de chlorhydrate à 1/2.000 de base, elle montre un minimum net d'imbibition au point isoélectrique.

pH de la solution
de chlorhydrate de quinine
à 1/2000 de base

Gonflement %

2,5.....	467
3,2.....	280
4,7.....	198
7,4.....	201
9.....	447

c) *L'influence de l'acide*, que la concentration des sels soit de 1 % ou de 1 ‰ en base, ne dépasse pas dans l'ensemble les erreurs d'expériences.

Solutions à 1 % de base	Gonflement %	Solutions à 1 ‰ de base	Gonflement %
Isobutyrate	180	Phénylbutyrate....	170
Formiate.....	180	Benzoate	172
Bromhydrate.....	186	Lactate	172
Chlorhydrate.....	188	Sulfate.....	174
Gluconate.....	191	Phénylpropionate..	175
Quinate	193	Chlorhydrate.....	176
Lactate	201	Quinate	176
Valérianate.....	203	Formiate.....	178
		Citrate.....	180
		Valérianate.....	180
		Isobutyrate	184
		Gluconate	186
		Phénylacétate.....	187
		Bromhydrate.....	187

En conclusion, l'influence de la quinine sur le gonflement d'un gel comme la gélatine est très faible. Elle se traduit aux doses fortes par une imbibition moins grande du gel qu'en présence d'eau distillée. Elle est si peu influencée, aux concentrations faibles qu'il est possible d'étudier, par l'acide qui salifie l'alcaloïde, que ce phénomène ne peut expliquer les différences constatées sur la cellule vivante.

Tension superficielle des diverses solutions aqueuses des sels de quinine.

Dès 1904, TRAUBE (317) remarqua, dans ses expériences sur l'osmose, que les substances qui abaissent le plus la tension superficielle de l'eau, pénètrent le plus rapidement dans la cellule. Cette observation servit de point de départ à sa théorie formulée, plus complètement, en 1910, théorie que l'on peut résumer ainsi : « Plus une substance est tensio-active, moins elle adhère à l'eau, car d'après le théorème de GIBBS, la force qui la pousse, de la solution vers la surface, est très grande. La pression, qui correspond à la capacité d'attraction de la substance pour l'eau, a été appelée « pression d'adhésion ». On voit donc que plus cette pression d'adhésion sera petite, plus facilement la substance sortira de la solution et plus facilement cette substance sera dissoute ou adsorbée par une autre phase, liquide ou solide, se trouvant en contact avec la solution. »

Il en résulte, d'après TRAUBE, que tous les phénomènes de passage hors de la solution : capacité osmotique de pénétration, solubilité, coefficient de partage, adsorbabilité, sont en relation très étroite avec l'activité de surface.

De très nombreux arguments ont été présentés en faveur de la théorie de la pression d'adhésion, particulièrement en ce qui concerne le parallélisme entre l'activité des narcotiques et l'activité de surface. En dehors des travaux de TRAUBE lui-même, citons ceux de BILLARD et DIEULAFÉ (22), GOLDSCHMIDT et PRIBRAM (112), CZAPEK (57), KOPACZEWSKI (153), PORTIER et LOPEZ-LOMBA (232), TIFFENEAU et TORRÈS (314), ABELIN (1), etc., etc... Mais de nombreuses objections furent soulevées, particulièrement par FÜHNER (98), JOACHIMOGLU (133) et

WINTERSTEIN (335), qui obligèrent peu à peu TRAUBE à modifier, tout en maintenant toujours le fond primordial de sa théorie, son idée de « pression d'adhésion » pour la conception nouvelle de « tension d'interface ». Nous n'insistons pas sur la bibliographie très étendue de cette question qui a fait l'objet d'une étude approfondie de J. RÉGNIER (106) sur « la théorie de la tensio-activité de la narcose ».

Malgré les discussions créées autour des conceptions de TRAUBE, il n'est pas douteux que les phénomènes de tension superficielle jouent un rôle certain dans les processus de perméation à travers la couche limitante. En ce qui concerne les anesthésiques locaux, il semble que la baisse de tension superficielle, incapable de créer par elle-même l'activité anesthésique, puisse permettre une meilleure utilisation de cette activité, quand elle existe, sans doute par une fixation plus parfaite des substances anesthésiques considérées sur la cellule. C'est la conclusion à laquelle ont été amenés J. RÉGNIER et R. DAVID (251) lorsqu'ils ont étudié la tension superficielle de divers sels de para-aminobenzoyldiéthylaminoéthanol (base de la novocaïne) en solutions aqueuses, équivalentes en base (1 % en chlorhydrate).

Ils ont constaté, en effet, que la tension superficielle des solutions des sels autres que le chlorhydrate, est toujours inférieure à celle de l'eau. Mais alors que la différence est insignifiante pour les citrate, tartrate, para-aminobenzoate, para-aminophénylacétate, sels d'activité anesthésique faible, la différence est grande et de plus en plus grande pour le benzoate et les sels homologues, sels d'activité anesthésique de plus en plus forte.

Pour ces derniers sels, l'addition de l'acide correspondant, effectuée dans le but d'abaisser la réaction au même pH uniforme, produit un abaissement encore plus grand de la tension superficielle.

Pour nous faire une idée comparative de la tensio-activité des sels de quinine en solution aqueuse, nous avons repris la technique utilisée par ces auteurs, à savoir la méthode stalagmométrique, au compte-goutte pipette de DUCLAUX.

R. N. CHOPRA et S. G. CHOUDHURY (47) ont en effet attribué en partie l'augmentation de l'action thérapeutique des alcaloïdes du quinquina en milieu alcalin à l'abaissement de la tension superficielle de ces alcaloïdes.

Nous avons expérimenté des solutions à 1 ‰ de base quinine,

préparées avec de l'eau bidistillée de pH 5,8, dans des vases lavés à la solution sulfo-chromique et convenablement rincés. Le compte-goutte fut également lavé dans les mêmes conditions et le même appareil utilisé pour toutes les mesures.

Trois déterminations furent faites par solution, généralement semblables à une demi-goutte près.

Nous avons appliqué la formule de TATE

$$\alpha = \frac{N}{N'} \times d \times 74$$

N étant le nombre de gouttes (moyenne des trois mesures) d'un volume de 5 cc. d'eau distillée ; N' le nombre de gouttes du même volume, dans les mêmes conditions, du liquide à étudier, d la densité de ce liquide mesurée par la méthode pycnométrique et toujours voisine de 1.002 ou 1.003 ; 74 la tension superficielle, la plus probable, de l'eau en dynes par centimètre, à la température du laboratoire, 18 à 20°.

Le tableau ci-dessous donne les résultats obtenus. Son examen nous permet les constatations suivantes, assez proches de celles déjà faites avec les sels de para-aminobenzoyldiéthylamino-éthanol.

Solutions aqueuses à 1 ‰ de base quinine, préparées avec les sels suivants :	Tension superficielle des solutions en dynes par cm.
Quinate.....	72,6
Chlorhydrate.....	72,5
Bromhydrate.....	72,5
Formiate.....	72,5
Lactate.....	72,5
Citrate.....	72,1
Gluconate.....	71,8
Sulfate.....	71,8
Isobutyrate.....	71,7
Valérianate.....	70,4
Benzoate.....	70,0
Phénylacétate.....	69,8
Phénylpropionate.....	67,3
Phénylbutyrate.....	67,0

1° La tension superficielle des solutions aqueuses de tous les sels de quinine est inférieure à celle de l'eau.

2° Il existe de grandes différences entre les sels. Si, par rap-

port à l'eau, la différence est peu importante pour les sels à acides minéraux ou chargés en fonctions alcools ou acides, elle devient assez considérable, compte tenu de la faible concentration des solutions, pour les sels à acides porteurs d'un noyau benzénique et d'une chaîne grasse.

L'abaissement de tension superficielle est d'autant plus grand que la chaîne est plus longue et ceci aussi bien pour les acides aliphatiques (Formiate $\rightarrow$ Isobutyrate $\rightarrow$ Valérianate) que pour les acides aromatiques (Benzoate $\rightarrow$ Phénylacétate $\rightarrow$ Phénylpropionate $\rightarrow$ Phénylbutyrate).

Il est curieux de comparer ces résultats avec ceux obtenus, avec les mêmes solutions, dans les expériences de dialyse à travers les membranes de cellophane, où nous constatons, en particulier pour les acides aromatiques, que la vitesse de dialyse est d'autant plus grande que la chaîne est moins longue. On serait en droit, d'après la théorie de TRAUBE, d'attendre le contraire étant donné le sens de la variation de tensio-activité. Mais peut-être y a-t-il fixation des sels les plus tensio-actifs sur la membrane.

Comme nous l'avons fait remarquer, sans négliger le rôle indéniable de la tension superficielle dans le phénomène de perméation à travers la membrane inerte, le rôle important est à chercher, dans ce cas, beaucoup plus du côté du volume moléculaire.

CONCLUSION

Résumé des résultats obtenus.

Nous avons recherché, en expérimentant avec des solutions de sels de quinine équivalentes en base, si l'acide salifiant cet alcaloïde modifie l'intensité de son action pharmacodynamique ainsi que J. RÉGNIER et ses collaborateurs l'ont mis en évidence avec les bases anesthésiques locales, la morphine, l'atropine, etc...

Nous nous sommes adressé pour cela à différentes propriétés bien connues de la quinine, en particulier à son action toxique pour les Protozoaires, sa fixation élective sur les hématies, son action hémolytique, son action sur les terminaisons nerveuses, sa toxicité pour l'animal, son élimination urinaire, son action antiinfectieuse à l'égard de la streptococcie et de la pneumococcie expérimentales. Nous avons en outre, en prenant pour tests son action toxique sur les Euglènes et les modifications de l'équilibre cytoplasmique chez un Hémiascomycète, expérimenté sur la cellule végétale.

Afin de connaître, autant que possible, quelles sont les propriétés physico-chimiques responsables des différences d'activité constatées, nous avons recherché l'influence de l'acide salifiant la quinine, sur certaines propriétés de ses sels susceptibles de jouer un rôle dans le processus de perméation à travers la phase limitante de la cellule vivante. Nous avons déterminé successivement la solubilité dans l'eau, l'alcool et l'éther des quatorze sels basiques expérimentés ; le pH, le degré de dissociation et d'hydrolyse, de leurs solutions aqueuses ; leur rapidité de diffusion libre dans l'eau distillée ou ralentie soit par un gel de gélatine ou de gélose, soit par un septum de cellophane ; leur capacité de faire gonfler la gélatine ordinaire ou isoélectrique et leur tension superficielle.

Entre temps, nous avons recherché l'influence de l'acide salifiant sur le point de fusion des sels de quinine, leur pouvoir rota-

toire en solution alcoolique et la couleur de fluorescence de leurs solutions aqueuses toujours équivalentes en base.

Nous présentons en premier lieu, les différentes conclusions auxquelles nous ont amené nos essais pharmacodynamiques, en second lieu, celles que nous pouvons tirer de nos expériences physico-chimiques. Nous en déduirons par la suite les enseignements que nous pouvons dégager de l'ensemble de nos recherches.

A) RÉSULTATS D'ORDRE PHARMACODYNAMIQUE.

1. *Action sur les Protozoaires.* — L'action toxique des solutions aqueuses de chlorhydrate de quinine sur un Infusoire cilié, *Glaucoma scintillans*. F. HRENBURG, augmente avec la concentration, avec l'élévation de température et avec le pH des solutions. Les sels s'ordonnent selon la série suivante, en allant des moins actifs aux plus actifs :

Citrate < quinate, lactate, sulfate < gluconate, bromhydrate, chlorhydrate, valérienate < benzoate < formiate, isobutyrate, phénylacétate, phénylpropionate, phénylbutyrate.

Sur un Amibien, *Entamæba invadens*. RODHAIN, l'action toxique est semblable et la série trouvée est voisine de la précédente, à savoir :

Sulfate < citrate < lactate < quinate < gluconate < chlorhydrate < bromhydrate < valérienate < formiate < isobutyrate < phénylbutyrate < benzoate < phénylacétate < phénylpropionate.

2. *Fixation sur les hématies.* — Il est possible d'extraire quantitativement la quinine des hématies ou du sérum sanguin par électrodialyse. Nous proposons un appareillage et une technique qui nous ont permis de retrouver, en quatre heures, la presque totalité de la quinine, mêlée au sang de Porc défibriné, sous forme de chlorhydrate, de quinate et d'isobutyrate en solutions équivalentes en base. Confirmant les recherches de R. FABRE, il a été retrouvé plus de quinine dans la partie globulaire que dans la partie sérique. L'acide salifiant ne paraît pas influencer cette fixation élective de l'alcaloïde sur les éléments figurés du sang.

3. *Action hémolytique.* — En milieu glucosé isotonique, les sels de quinine ont une action différente sur la vitesse de sédimentation des hématies de Porc et sur leur hémolyse. En ce qui concerne l'action sur la vitesse de sédimentation les sels s'ordonnent ainsi, en commençant par ceux pour lesquels la sédimentation est plus rapide :

Quinate, lactate > gluconate > chlorhydrate, bromhydrate, formiate, isobutyrate > valérianate, phénylacétate.

L'action hémolytique donne l'ordre suivant, à peu près inverse, en partant de ceux pour lesquels l'hémolyse est plus rapide :

Phénylacétate, isobutyrate > valérianate, formiate, lactate > chlorhydrate, quinate > bromhydrate, gluconate.

4. *Action sur les terminaisons nerveuses de la cornée et sur le tronc nerveux moteur.* — Expérimentés sur la cornée du Lapin selon la méthode de J. RÉGNIER, les sels suffisamment solubles ont été comparés au chlorhydrate de cocaïne. Si la valeur anesthésique de ce sel est prise pour unité, celle du chlorhydrate de quinine a été trouvée égale à 0,75. En solution à 1 % en base les sels de quinine s'ordonnent selon la série suivante, en allant du moins actif au plus actif :

Gluconate < quinate < lactate < chlorhydrate < isobutyrate < formiate.

Sur le nerf moteur par la méthode que J. RÉGNIER et nous-même avons proposée et qui est fondée sur les modifications de l'excitabilité (considérée comme l'inverse de l'énergie électrique dépensée pour déclencher l'excitation dans un segment nerveux de résistance connue) et de ses paramètres, nous avons constaté que le chlorhydrate de quinine agit en liquide de Ringer, à doses suffisantes, en faisant baisser l'excitabilité et la chronaxie. Pour certaines concentrations, la résistance du nerf est augmentée ce qui apparente la quinine à un anesthésique local de synthèse que nous avons déjà étudié, la Percaïne.

En milieu glucosé isotonique, c'est-à-dire en l'absence d'électrolytes, les sels de quinine augmentent la valeur de l'expression d'excitabilité et la chronaxie. Cette augmentation est plus forte après un temps déterminé pour l'isobutyrate que pour le chlo-

rhydrate et plus faible pour le quinate que pour le chlorhydrate. Nous avons discuté cette particularité d'action qui montre que la quinine n'agit pas comme les anesthésiques locaux du type cocaïne. A nos yeux, la quinine n'apparaît pas comme un anesthésique local vrai.

5. *Toxicité pour la Souris.* — Calculée par la méthode de BEHRENS et KÄRBER, la toxicité des sels de quinine par voie buccale montre l'ordre suivant :

chlorhydrate > citrate > gluconate > phénylpropionate > phénylbutyrate.

Par voie sous-cutanée le chlorhydrate et le gluconate ont sensiblement la même toxicité. Nous avons décrit les symptômes de cette intoxication et signalé que les injections de gluconate paraissent éviter les escarres fréquentes consécutives aux injections de chlorhydrate.

6. *Elimination urinaire.* — Administrés par voie intraveineuse au Lapin, en solutions aqueuses équivalentes en base (1 cc. à 1 %), les sels de quinine étudiés présentent un maximum d'élimination qui s'établit entre la deuxième et la quatrième heure après l'injection et qui est différemment élevé selon les sels. C'est ainsi que ce maximum décroît de l'isobutyrate au formiate puis au lactate, au quinate et enfin au chlorhydrate. La quantité de quinine éliminée en 8 heures est nettement plus forte pour l'isobutyrate et plus faible pour le chlorhydrate, les trois autres sels ont une place intermédiaire.

Nous avons noté, en outre, une action diurétique assez nette qui paraît peu influencée par l'acide salifiant, et une activité antipyrétique, décelable même sur la température normale, et paraissant plus prononcée pour l'isobutyrate et le formiate que pour le chlorhydrate.

7. *Action antiinfectieuse sur la Souris.* — Les animaux ont été infectés par voie intrapéritonéale avec une souche de Streptocoque et une souche de Pneumocoque dont la virulence a été vérifiée.

Administrée par voie buccale ou sous-cutanée, la quinine, sous forme de chlorhydrate, de gluconate, de phénylpropionate ou de phénylbutyrate n'a montré, aux doses expérimentées, aucune action antiinfectieuse digne de retenir l'attention.

8. *Action sur la cellule végétale.* — La cellule végétale est nettement plus résistante que la cellule animale, à l'action pharmacodynamique de la quinine.

Étudiée sur un Archéphyte, *Euglena gracilis*. KLEBS, par une méthode semblable à celle qui fut utilisée avec les Protozoaires, elle a donné des résultats parallèles, tant en ce qui concerne l'action toxique par elle-même que les divers facteurs susceptibles de l'influencer. La série trouvée pour les sels a été la suivante :

gluconate < quinate < bromhydrate < lactate $\leq$ chlorhydrate < formiate < valérienate < isobutyrate < phénylacétate.

La quinine modifie l'équilibre cytoplasme-vacuole des hyphes d'un Hémiacomycète, l'*Ascoïdea rubescens*. BREFELD, ainsi que GAVAUDAN l'a observé avec d'autres alcaloïdes.

Reprenant la technique que J. RÉGNIER et nous-même avons mise au point avec cet auteur, nous avons pu classer les sels, selon leur activité croissante, dans l'ordre suivant :

phénylpropionate, gluconate < citrate < lactate, bromhydrate < chlorhydrate < valérienate < sulfate < formiate < isobutyrate < quinate, benzoate < phénylacétate < phénylbutyrate.

Mis à part le phénylpropionate et le quinate, dont l'action, pourtant vérifiée à maintes reprises, apparaît sur ce dernier test, comme aberrante, nous retrouvons donc sensiblement sur la cellule végétale les trois groupes de sels qui se dégagent de l'expérimentation sur la cellule et les tissus animaux à savoir : sulfate et sels à acides porteurs de fonctions alcools d'activité plus faible ; bromhydrate et chlorhydrate d'activité moyenne ; formiate et sels à acides porteurs d'une chaîne aliphatique ou d'un noyau aromatique d'activité plus forte. Cet ordre n'apparaît pas dans la toxicité relative des sels pour l'animal, où le chlorhydrate est plus toxique que les autres, mais ceci s'explique aisément par la plus faible élimination urinaire du sel en question. La complexité des phénomènes qui règlent la destinée des substances toxiques dans l'organisme ne permet d'ailleurs pas une explication simple des faits, la perméabilité des barrières physiologiques successives pouvant jouer dans un sens favorable ou défavorable sur la résultante expérimentale.

B) RÉSULTATS D'ORDRE PHYSICO-CHIMIQUE.

9. *Poids moléculaires.* — Afin de pouvoir faire entrer ce facteur dans la discussion qui va suivre, nous présentons l'ordre de classement des sels selon leur poids moléculaire :

Formiate < chlorhydrate < isobutyrate < lactate < bromhydrate < valérienate < benzoate < phénylacétate < phénylbutyrate < phénylpropionate < quinate < gluconate < sulfate < citrate.

10. *Points de fusion.* — L'ordre de classement des sels selon leur point de fusion déterminé par la méthode au bain d'huile est le suivant :

Valérienate < phénylpropionate < isobutyrate < formiate < chlorhydrate < phénylbutyrate < bromhydrate < gluconate < phénylacétate < lactate < benzoate < quinate < sulfate < citrate.

Il apparaît, aussi bien pour les sels à acides aliphatiques qu'à acides aromatiques, que le point de fusion est d'autant plus bas que le nombre d'atomes de carbone de la chaîne grasse est plus élevé, jusqu'à une certaine limite puisque le phénylbutyrate fait exception. Les sels à acides dont le radical est oxygéné ont un point de fusion plus élevé que les autres.

11. *Solubilité.* — La solubilité dans l'eau distillée donne la série suivante, en commençant par les sels les plus solubles :

Gluconate > quinate > lactate > chlorhydrate > formiate > isobutyrate > bromhydrate > valérienate > benzoate > phénylacétate > phénylpropionate > phénylbutyrate > citrate > sulfate.

Dans l'alcool absolu, la solubilité des sels s'ordonne ainsi :

Bromhydrate > chlorhydrate > isobutyrate > phénylbutyrate > valérienate > phénylpropionate > formiate > phénylacétate > lactate > benzoate > gluconate > sulfate > quinate > citrate.

L'ordre obtenu pour la solubilité dans l'éther anhydre est le suivant :

Valérianate > isobutyrate > phénylbutyrate > phénylpropionate > phénylacétate > benzoate > lactate > formiate > quinate > bromhydrate > chlorhydrate > sulfate > gluconate > citrate.

Ainsi donc, aussi bien pour les sels à acides aromatiques qu'aliphatiques, l'allongement de la chaîne grasse diminue la solubilité dans l'eau et l'augmente dans l'alcool et l'éther. La présence de fonctions alcools augmente la solubilité dans l'eau et la diminue dans l'alcool et l'éther, sauf pour le citrate qui est très peu soluble dans les trois solvants.

L'introduction d'un noyau benzénique diminue la solubilité dans l'eau et dans l'alcool. Pour les sels à acides porteurs d'une chaîne grasse, l'introduction d'un noyau benzénique diminue la solubilité dans l'éther, alors qu'elle est augmentée dans le cas formiate-benzoate. Enfin les halogénures qui sont très solubles dans l'eau et l'alcool, sont insolubles dans l'éther.

Retenons dans l'ensemble, que les sels à acides porteurs de fonctions alcools sont peu solubles, et que les sels à acides porteurs de chaînes aliphatiques sont très solubles dans les deux solvants des matières grasses.

12. *pH*. — Les résultats obtenus par la méthode électrométrique avec des solutions aqueuses à 1 ‰ de base ont permis le classement suivant :

Citrate < lactate < sulfate < chlorhydrate < quinate < phénylbutyrate < bromhydrate < gluconate < benzoate < formiate < phénylpropionate < isobutyrate < phénylacétate < valérianate.

Ainsi l'allongement de la chaîne de l'acide aliphatique augmente le pH de la solution saline, alors que dans le cas des acides à noyau aromatique, il augmente puis diminue dès le deuxième terme de la série.

La présence de fonctions alcools ne fait pas varier la réaction dans un sens systématique. D'ailleurs, les différences sont assez peu accusées puisque si nous exceptons le citrate, dont la solu-

tion présente un $\text{pH} = 5,5$, les solutions de tous les autres sels ont un pH compris entre 6,3 et 6,75.

13. *Pouvoir rotatoire.* — En solutions alcooliques équivalentes en base, le pouvoir rotatoire des sels étudiés est indépendant de l'acide salifiant.

14. *Couleur de fluorescence.* — Examinée aux rayons ultra-violet, la teinte de fluorescence des sels de quinine, dont la fondamentale est bleue, s'accroît vers le violet lorsque la chaîne aliphatique de l'acide s'allonge. La présence de fonctions alcools semble la faire virer vers les teintes plus claires.

15. *Coefficient d'ionisation et constante de dissociation.* — Les coefficients d'ionisation présentent des valeurs élevées souvent voisines de l'unité. Tous les sels de quinine sont donc fortement dissociés. Ils ne suivent pas la loi de dilution d'OSTWALD et se comportent comme des électrolytes forts puisque leur constante de dissociation est élevée et varie avec la concentration de la solution.

Classés selon leur constante de dissociation moyenne décroissante, les sels de quinine se rangent ainsi :

Chlorhydrate > phénylpropionate > phénylbutyrate > gluconate > lactate > bromhydrate > formiate > quinate > isobutyrate > valérianate > benzoate > phénylacétate > citrate > sulfate.

Il n'est guère possible, dans cette série, de dégager une relation entre la constitution chimique de l'acide salifiant et la constante de dissociation du sel.

16. *Constante et degré d'hydrolyse.* — Les constantes d'hydrolyse des sels de quinine sont peu élevées surtout pour les sels minéraux. Leur degré d'hydrolyse permet de les classer dans l'ordre suivant :

Bromhydrate, chlorhydrate < sulfate < citrate < formiate < quinate, lactate < phénylpropionate < benzoate < phényl acétate < gluconate < isobutyrate < phénylbutyrate < valérianate.

Il semble que l'allongement de la chaîne grasse de l'acide salifiant, ainsi que l'introduction d'un noyau aromatique, favorisent

l'hydrolyse du sel. Une acidité minérale, comme on doit s'y attendre, l'empêche.

17. *Diffusion dans l'eau distillée et dans les gels.* — La nature de l'acide qui salifie la quinine joue un rôle certain dans la vitesse de diffusion de l'alcaloïde. Le pH de la solution ne paraît pas l'influencer.

Si l'approximation des méthodes permet difficilement de proposer un ordre individuel de classement des sels selon leur diffusibilité plus ou moins grande, on peut toutefois reconnaître des groupes de sels qui diffusent à différentes vitesses.

Ainsi, dans l'eau distillée, viennent en tête (vitesse de diffusion plus grande) :

Chlorhydrate, bromhydrate, formiate, phénylacétate, phénylbutyrate, isobutyrate, puis :

Valérianate > phénylpropionate > benzoate, lactate > sulfate
enfin : quinate > citrate > gluconate.

Ces résultats amènent aux déductions suivantes :

Les halogénures diffusent plus vite que le sulfate, le chlorhydrate paraissant avoir la plus grande vitesse de diffusion de tous les sels. L'allongement de la chaîne grasse, ainsi que la présence de fonctions alcools dans l'acide salifiant, ralentissent la diffusion de l'alcaloïde. Enfin, c'est le sel alcaloïdique qui diffuse en entier, l'anion suit le cation en vertu de la loi de neutralité électrique.

Les résultats obtenus avec la diffusion dans des gels de gélatine ordinaire, de gélatine isoélectrique ou de gélose, ont permis de reconnaître les faits suivants :

La pénétration de la quinine dans les trois gels, croît avec la concentration et la température. Elle croît avec le pH pour la gélatine, mais est plus grande à pH 3 pour la gélose.

L'influence de l'acide salifiant s'apparente assez à celle qui a été trouvée dans la diffusion libre, bien que pour les gels, le chlorhydrate n'occupe pas de place privilégiée.

Enfin, c'est bien la solution saline qui diffuse dans son entier.

18. *Passage à travers les membranes inertes.* — La rapidité de passage du chlorhydrate de quinine à travers un septum de

cellophane, passe par un maximum vers pH : 4-5 et par un minimum vers pH : 6,5. C'est le sel dans son entier, anion et cation qui traverse la membrane. Les halogénures passent plus vite que les autres sels qui se rangent ensuite de la façon suivante :

Formiate > isobutyrate, lactate > benzoate > phénylacétate
> valérienate > phénylpropionate > quinate > phénylbutyrate
> gluconate > sulfate > citrate.

Cette série, qui s'apparente à celle des poids moléculaires montre que l'allongement de la chaîne grasse des acides aromatiques ou aliphatiques et la présence de fonctions alcools, diminuent la vitesse de perméation.

19. *Gonflement de la gélatine.* — Effectuée avec la gélatine du Codex et la gélatine isoélectrique, cette recherche a montré que l'imbibition du gel est moins grande qu'en eau distillée pour les solutions de chlorhydrate à 1 % en base. En fonction du pH, elle passe par un minimum au point isoélectrique. Le phénomène ne paraît pas influencé par l'acide salifiant.

20. *Tension superficielle.* — Mesurée par la méthode stalagmométrique dans l'air, la tension superficielle des solutions aqueuses à 1 ‰ de base de tous les sels de quinine est moins grande que celle de l'eau. En allant des moins tensio-actifs aux plus tensio-actifs, on observe l'ordre suivant :

Quinate < chlorhydrate < bromhydrate < formiate < lactate
citrate < gluconate < sulfate < isobutyrate < valérienate < benzoate < phénylacétate < phénylpropionate < phénylbutyrate.

Si, par rapport à l'eau, la différence est peu importante pour les sels à acides minéraux ou chargés en fonctions alcools ou acides, elle devient fort nette pour les sels à acides porteurs d'un noyau benzénique et d'une chaîne grasse. L'abaissement de la tension superficielle est d'autant plus grand que la chaîne est plus longue et ceci, aussi bien pour les acides aliphatiques que pour les acides aromatiques. La présence d'un noyau benzénique influence nettement la tensio-activité.

DISCUSSION

L'ensemble de nos résultats pharmacologiques nous permet d'attribuer un rôle certain à l'acide qui salifie la quinine sur les propriétés pharmacodynamiques de cet alcaloïde. Particulièrement net dans les cas où la quinine agit directement sur la cellule animale ou végétale, ce rôle l'est encore lorsque le sel alcaloïdique est présenté au tissu ou administré à l'organisme (toxicité) (*).

En général, les sels s'ordonnent selon une série qui a été mise en évidence pour la première fois par J. RÉGNIER avec les bases anesthésiques locales et qui comprend trois groupes :

En premier lieu, le groupe des sels à acides organiques aliphatiques ou aromatiques, porteurs ou non d'une chaîne grasse, d'activité pharmacodynamique plus intense.

En second lieu, le groupe des sels minéraux comme le chlorhydrate et le bromhydrate, d'activité moyenne.

En troisième lieu, le sulfate et le groupe des sels à acides organiques porteurs de fonctions alcooliques ou acides.

Toutefois, les différences constatées avec les sels de quinine sont bien moins importantes que celles qui ont été trouvées avec la cocaïne, la novocaïne ou la morphine. La quinine se laisse plus difficilement orienter dans un sens favorable ou défavorable par l'acide qui la salifie. Il semble que cette absence de « mobilité » de la base alcaloïdique ne soit pas étrangère à la nature colloïdale de cette base, qui fut longtemps soupçonnée et mise en évidence par les recherches de TRAUBE et ONODERA (319).

Il apparaît que si les séries obtenues ne sont pas toujours exactement superposables (cas de la toxicité pour les Protozoaires, de l'action sur la cellule végétale), la raison doit en être cherchée dans la constitution même de la phase limitante de la cellule et dans la perméabilité de cette phase, ou bien encore (cas de la toxicité pour la Souris) dans l'intervention d'autres facteurs que celui de simple perméation et qui règlent l'accumulation du

(*) Ce rôle n'a toutefois pu être démontré dans le cas de la fixation sur les hématies (où la technique manque peut-être de sensibilité) et dans l'action antiinfectieuse (qui n'apparaît pas aux doses étudiées).

toxique dans l'organisme comme la vitesse d'élimination ou de destruction de la drogue.

Ces considérations ont d'ailleurs été mises en lumière par J. RÉGNIER qui a toujours soutenu que trois variables entrent en jeu dans l'action pharmacodynamique d'un alcaloïde, à savoir : la base alcaloïdique elle-même, support des propriétés fondamentales ; l'acide qui salifie cette dernière, support, quelquefois de propriétés pharmacodynamiques particulières, toujours, de la facilité plus ou moins grande avec laquelle le toxique pénètre dans la cellule ; enfin la constitution du pourtour cellulaire qui règle évidemment la perméabilité de l'élément physiologique intéressé.

A quelles propriétés physico-chimiques pouvons-nous attribuer l'influence favorable ou défavorable de certains acides ?

Nous savons que nous ne pouvons retenir dans ce cas les phénomènes de gonflement.

Peut-on admettre l'hypothèse de O. GROS selon laquelle seule la base libérée par hydrolyse pénètre dans la cellule, les différences d'activité entre les sels étant dues à la plus ou moins grande quantité de base alcaloïdique ainsi libérée ? Nos résultats n'appuient pas cette conception.

Le degré d'ionisation des solutions alcaloïdiques ne l'explique pas davantage, ce qui ne saurait surprendre, puisqu'un tel fait n'a été supposé qu'en se fondant sur l'idée, *a priori*, que les sels d'alcaloïdes doivent se conduire comme des sels minéraux et surtout ammoniacaux.

Si la vitesse de diffusion libre ou freinée soit par un septum, soit par un gel, ainsi que le pH, permettent de comprendre la lenteur particulière de perméation des sels à acides porteurs de fonctions alcools, ils n'expliquent pas l'activité prononcée des sels à acides aromatiques.

De même l'influence favorable des acides isobutyrique, valériannique, benzoïque, phénylacétique, phénylpropionique, phénylbutyrique, peut trouver une explication dans les phénomènes de tension superficielle, mais comment comprendre, avec la seule tensio-activité, l'influence défavorable des ions citrique et gluconique par exemple ?

La solubilité dans l'eau nous montre les moins actifs parmi les plus solubles, sauf le citrate et le sulfate, ce qui peut s'accorder avec la règle de RICHER (275). La solubilité dans l'alcool et l'éther

surtout pour ce dernier solvant, présente une série qui s'apparente assez à celle de l'activité pharmacodynamique.

Doit-on conclure que les sels à acides favorables sont plus solubles dans les substances lipoidiques que les sels à acides défavorables, ce qui appuierait une fois de plus la théorie de MEYER et OVERTON ? Mais cette solubilité dans les matières grasses, compréhensible lorsque l'on admet que la base est libérée par hydrolyse devient difficile à admettre lorsqu'on sait, comme l'a pensé J. RÉGNIER, que c'est la molécule saline qui agit, conception qu'appuient encore nos observations sur les phénomènes de diffusion. Or, d'après les modèles qui ont été employés (solution aqueuse de sel alcaloïdique agitée en présence d'huile d'olive), il n'a pas été possible de mettre en évidence un partage du sel entre huile et eau.

Il semble donc qu'il n'y a pas — parmi celles que nous avons étudiées — de propriété physico-chimique « éminente » responsable à elle seule de la plus ou moins grande activité pharmacodynamique des sels de quinine. Toutes concordent à la perméation dans la cellule vivante, et les différences d'action, que nous observons entre les divers sels, sont la résultante d'un grand nombre de propriétés particulières, où entrent en jeu, de façon plus importante peut-être, le pH et la tensio-activité. Ces facteurs agissent non seulement sur l'alcaloïde, mais aussi sur l'élément vivant auquel on l'adresse. Cette action est tellement complexe que l'on verra dans certains cas l'activité pharmacodynamique inversée, l'ordre attendu changer de sens, les différences entre les sels s'amenuiser.

Il apparaît que, dans le problème qui nous occupe, de l'influence de l'acide salifiant sur l'activité pharmacodynamique des alcaloïdes, chaque organe, chaque tissu a une façon particulière d'accueillir le mode de présentation du toxique.

S'il est possible de discerner les facteurs chimiques et physiques prépondérants dans l'orientation favorable ou défavorable de l'acide salifiant, l'expérimentation pharmacologique de chaque cas particulier, qui a permis de mettre le phénomène en évidence, reste le seul moyen de connaître cette orientation avec certitude.

BIBLIOGRAPHIE

A

1. ABELIN (J.). — Über die lokalanästhetischen und narkotischen Wirkungen des Phenylethylamins und einiger seiner Derivate. *Biochem. Ztschr.*, 1923, 141, 458.
2. ACTON (H. W.). — On the behaviour of *Paramecium caudatum* towards the Cinchona alkaloids. *Ind. Journ. of Med. Research.*, 1921, 9, 339.
3. ACTON (H. W.) et KING (H.). — The nephelometric estimation of quinine in blood. *Bioch. Journ.*, 1921, 15, 53.
4. ADAMI (E.). — Ricerche sperimentali comparative sul fenilpropionato e sul cloridrato di p. aminobenzoildietilaminoetano, specialmente in rapporto al loro potere anestetico. *Arch. ital. Sc. farm.*, 1938, 7, 29.
5. ALPATOW (W. W.) et NASTJUKOWA (O.). — Augmentation de la toxicité de la quinine par irradiation au moyen de rayons ultra-violets courts. *C. R. Ac. Sc. U. R. S. S.*, 1934, 2, 238.
6. ANDANT (A.). — Identification des produits pharmaceutiques par leurs spectres d'absorption et de fluorescence. Etude des alcaloïdes. *Thèse Doct. Pharm.*, Paris, 1929.
7. ANSCHÜTZ (G.). — Untersuchungen über direkte Einwirkung des Chinins und Methylenblaus auf Protozen. *Centralbl. f. Bakt. I. origin.*, 1910, 54, 227.
8. ANSELMINO (K. J.). — Untersuchungen über die Durchlässigkeit künstlicher kolloidaller Membranen. *Biochem. Ztschr.*, 1927, 192, 390.
9. ARLOING (M.). — Note sur quelques points de l'action physiologique de la cocaïne. *C. R. Soc. Biol.*, 1885, 37, 15.
10. AVERBUCK (S. H.). — Ueber die Diuresehemmung durch Antipyretics. *Arch. f. exp. P. u. P.*, 1930, 157, 330.

B

11. BAADE (K.). — Zur Frage der Abhängigkeit von Giftwirkungen vom physikalisch-chemischen Zustand von Zellen. *Arch. f. exp. P. u. P.*, 1926, 114, 137.
12. BALDONI (A.). — Sulla determinazione quantitativa della chinina nelle urine e nel sangue. *Arch. di Farmacol.*, 1912, 13, 324.
13. BARABASCHEW (P. v.). — Zur Frage von der Chinin-Amaurose. *Arch. f. Augenheilkunde*, 1891, 23, 91.
14. BARJON (F.) et REGAUD (Cl.). — Etude histologique du sang et généralement de tous liquidés tenant en suspension des éléments anatomiques naturellement ou artificiellement dissociés. *C. R. Soc. Biol.*, 1903, 55, 1311 et 1485.
15. BAUR (J.) et REVEILLET (M.). — Note sur la recherche quantitative clinique de la quinine dans les urines. *Union pharmaceutique*, 1918, 59, 123.
16. BAZILLE (S.). — Contribution à l'étude toxicologique du fluor. *Thèse Doct. Pharm.*, Paris, 1935.
17. BEARNHARD et BEAVER. — The electro dialyse of human blood serum. *J. biol. chem.*, 1926, 69, 113.
18. BEHRENS (B.) et KÄRBER (C.). — Wie sind Reihenversuche für Biologische Auswertungen am zweckmässigsten anzuordnen? *Arch. f. exp. P. u. P.*, 1935, 177, 379.
19. BENEDETTO (E.). — Electrodialyse des électrolytes du sérum sanguin. *Rev. Soc. Argentina biol.*, 1932, 8, 497.
20. BIGELOW (S. L.) et GEMBERLING (A.). — Collodion membranes. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1907, 29, 1576.
21. BILLARD (G.). — La Phylaxie. Doin, édit. Paris, 1921.
22. BILLARD (G.) et DIEULAFÉ (L.). — Toxicité des alcools, fonction de leur tension superficielle. *C. R. Soc. Biol.*, 1904, 56, 452.
23. BINET (L.) et FABRE (R.). — Répartition de la quinine entre les globules rouges et le plasma. *J. P. C.*, 1930, 11, 55.
24. — Quinine et sang splénique. *C. R. Soc. Biol.*, 1931, 106, 1116.
25. BINZ (C.). — Experimentelle Untersuchungen über das Wesen der Chininwirkung. Berlin, 1868 et Eulenburg's Realencyklopädie. Article Chinarine, 1880, 3, 177.
26. — Pharmakologische Studien über Chinin. *Virchow's Archiv.*, 1869, 46, 160.
27. — Das Chinin. Berlin, 1875.
28. BLÜH (O. v.). — Die Hydratation. *Protoplasma*, 1928, 3, 81.

29. BOCK (E.) et OESTERLIN (M.). — Über einige fluoreszenzmikroskopische Beobachtungen. *Centralbl. f. Bakt.*, 1939, 143, 206.
30. BOKORNY (Th.). — Vergleichende Studien über die Giftwirkung verschiedener chemischer Substanzen bei Algen und Infusorien. *Pflüger's Arch.*, 1896, 64, 262.
31. BRAHMACHARI (U.), BHATTACHAYYA (T.), BANERJEA (R.) et MAIFY (B. B.). — Chemotherapy of Quinoline compounds. Part. I. A preliminary report on the action of certain quinoline compounds on paramoecia. *Journ. of Pharmacol.*, 1930, 39, 413.
32. BRINKMANN (R.) et SZENT-GYÖRGYI (A. V.). — Studien über die physikalisch-chemischen Grundlagen der vitalen Permeabilität. I. III. *Biochem. Ztschr.*, 1923, 139, 261-270 et 274.
33. BROWN (E.). — The effect of Quinine on cultures of Pneumococci. *Proceed. Amer. Soc. of biol. chem.* (in *J. biol. chem.*, 1912, 11, 36).
34. BRUMPT (E.). — Une dysenterie amibienne expérimentale, fatale pour les vipères, pourrait probablement être utilisée pour la destruction de ces reptiles. *C. R. Ac. Sc.*, 1939, 209, 362.
35. BUCHNER (E. H.) et POSTMA (G.). — *Proc. Kon-Akademie van wetens-chappente*. Amsterdam 1931, 30, 699, d'après Thompson (F. C.) : « The effect of neutral salts on the swelling » dans (129).
36. BUCHOLTZ (L.). — Antiseptica und Bakterien. *Arch. f. exp. P. u. P.*, 1875, 4, 1.
37. BURSTEIN (A. I.). — Adsorption von Nicotin durch die Formelelemente des Blutes. *Arbeits. Physiol.*, 1932, 6, 105.
38. BUSCK (G.). — Die photobiologischen Sensibilisatoren und ihre Eiweissverbindungen. *Biochem. Ztschr.*, 1906, 1, 425.

C

39. CANALS (E.), MOUSSERON (M.) et PERROTTET (S.). — Dispersion rotatoire des sels de quinine du Codex. *J. P. C.*, 1934, 19, 578.
40. CANTACUZÈNE (A. et A.). — Sensibilité des infusoires vis-à-vis de la quinine. *C. R. Soc. Biol.*, 1925, 93, 600.
41. CARRISSON (R. Mc) et CORNWALL (J. W.). — Pharmacodynamics of quinine. *Ind. Journ. of Med. Research.*, 1919, 6, 248.
42. CASINI (G.). — Azione di alcuni preparati antimalarii sugli infusori. *Riv. di Malariologia*, 1936, 15, 153.

43. CHANITÈS (N. L.). — L'empoisonnement grave par la quinine. *Presse médicale*, 1935, 24, 479.
44. CHANOZ (A. M.). — Recherches expérimentales sur les contacts liquides. *Thèse Doct. ès Sc.*, Lyon, 1906 et De l'action électrogène des membranes. *C. R. Soc. Biol.*, 1926, 95, 852.
45. CHÉRAMY (P.) et LOBO (R.). — Sur l'extraction des dérivés barbituriques des viscères, emploi de l'acétone. *J. P. C.*, 1934, 20, 400. Méthode rapide de recherche des dérivés barbituriques dans le sang. *J. P. C.*, 1934, 20, 461. Voir également LOBO (R.) : Etudes critiques des méthodes d'extraction des toxiques organiques. *Thèse Doct. Pharm.*, Paris, 1934.
46. CHODAT (F.). — Contribution au problème des perméabilités cellulaires. Etude du gonflement de la gélatine sous l'influence de l'urée. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1925, 7, 113.
47. CHOPRA (R. N.) et CHOUDHURY (S. G.). — The role of surface tension on the activity of cinchona alkaloids. *Ind. Journ. Med. Research.*, 1929, 17, 360.
48. CHOUCROUN (F.). — Electrification d'adsorption. Colloïdes et membranes. *Thèse Doct. ès Sc.* Paris, 1923. Perméabilité sélective des membranes. Influence du calibre de leurs interstices. *C. R. Ac. Sc.*, 1927, 185, 502. Perméabilité sélective des membranes. Influence de la mobilité des ions sur la polarisation. *C. R. Acad. Sc.*, 1928, 186, 1548. Perméabilité sélective et polarisation des membranes. *C. R. Acad. Sc.*, 1932, 194, 1651.
49. CHRISTOPHERS (S. R.). — Haemolysis by acid and base and by acid and basic salts including quinine and its salts. *Ind. Journ. Med. Research.*, 1929, 17, 544.
50. CLICHE (E.). — Etude de la répartition érythroplasmique de quelques médicaments organiques. *Thèse Doct. Pharm.*, Paris, 1935.
51. COLLANDER (R.). — Über die Permeabilität von Kollodiummembranen. *Soc. Sc. Fennica Comm. biol.*, 1926, 2, Nr. 6.
52. COLLIER (W.) et KRAUSE (M.). — Zur Chemotherapie der Halteridieninfektion des Reisfinken. *Ztschr. f. Hyg. u. Infekt.*, 1929, 110, 522.
53. COLOMBIER (L.). — Fluorescence de la quinine en lumière ultra-violette. *Ann. Fals.*, 1931, 24, 89.
54. COOPER (S.). — The action of quinine and quinidin on frog's nerve. *J. of Physiol.*, 1924, 59, 40.
55. CONSOLAZIO (W. V.) et TALBOTT (J. H.). — The determination of total base in biological material by electrodialysis. *J. biol. chem.*, 1940, 132, 753.

56. CRANE MARIAN (M.). — The effect of hydrogen ion concentration on the toxicity of alkaloids for paramoecium. *Journ. of Pharmacol.*, 1921, 18, 319.
57. CZAPEK (F.). — Versuche über Exosmose aus Pflanzenzellen. *Ber. d. dtsh. botan. Ges.*, 1910, 28, 159.

D

58. DARWIN (C. R.). — Insectivorous plants. Londres, 1875.
59. DE CARO (L.). — Action sur le nerf et sur le muscle des substances du groupe de la pyridine. *Arch. int. Physiol.*, 1927, 29, 163.
60. DENIGÈS (G.). — Dosage fluoroscopique de la quinine. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 1904, 101.
61. DESHA (L. J.). — Fluoremetry, quantitative analysis by comparative fluorescence. Preliminary report. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1920, 42, 1350.
62. DESTOUCHES (L.). — La quinine en thérapeutique. Doin, édit. Paris, 1925.
63. DE VRY et ALLUARD. — Du pouvoir rotatoire de la quinine. *J. P. C.*, 1864, 46, 192.
64. DHÉRÉ (Ch.) et GORGOLEWSKI (M.). — Sur l'obtention par dialyse électrique d'un sérum extrêmement appauvri en électrolytes. *C. R. Acad. Sc.*, 1910, 150, 993.
65. DIACONO (H.). — Le phénomène hémolytique. *Thèse Pharm. Sup.* Montpellier, 1933 et *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, 1933, 21, 557.
66. DIKSHIT (B. B.). — Pharmacological action of Plasmoquine. *Rec. Malar. Surv. of India*, 1936, 6, 453.
67. DIXON (W. E.) et PREMANKUR (D. E.). — The action of certain quinine derivatives with special reference to local anaesthesia and pulmonary oedema. *Journ. of Pharmacol.*, 1927, 31, 407.
68. DODEL (P.). — Action phylactique de l'aldéhyde formique vis-à-vis de l'hémolyse par le bromhydrate de quinine. *C. R. Soc. Biol.*, 1928, 99, 444.
69. DOGNON (A.). — Précis de physico-chimie biologique et médicale. Masson, édit. Paris, 1929.
70. DRAGONE-TESTI (G.). — Azione di alcuni alcaloidi sul fenomeno dell' emissione delle radici. *Ann. di Bot.*, 1938, 21, 378.
71. DUBOIS (M.). — Action de la cocaïne sur la germination. *C. R. Soc. Biol.*, 1885, 37, 40.
72. DUCLAUX (J.). — Traité de chimie physique. Diffusion dans les

liquides (tome II, chap. I). Diffusion dans les gels et les solides (tome II, chap. II). Hermann, édit. Paris, 1936.

73. DUCLAUX (M.). — Sur la tension superficielle dans la série des alcools et des acides gras. *Ann. Chim. et Phys.*, 1878, **13**, 76.

E

74. EISLER (M. v.) et PORTHEIM (M. v.). — Über die Beeinflussung der Giftwirkung des Chinins auf *Elodea canadensis* durch Salze. *Biochem. Ztschr.*, 1909, **21**, 59.
75. ÉMERIQUE (L.). — Recherches sur l'imbibition de quelques complexes colloïdaux naturels. *Ann. Physiol. et Physico-chim. biol.*, 1928, **4**, 251.
76. ETTISCH (G.), BRADFIELD (R.) et EWIG (W.). — Zur Frage der Elektrodialyse des Serums. *Kolloïd. Ztschr.*, 1928, **45**, 141.
77. EULENBURG (A.), d'après ROHDE (E.). — (279).

F

78. FABRE (R.). — Sur un procédé de dosage spectrophotométrique des solutions de corps fluorescents. *Bull. Soc. chim.*, 1925, **37**, 1304.
79. — Etude de l'hémolyse par la digitonine, par la quinine et par hypotonie. Comparaison des résultats obtenus. *J. P. C.*, 1926, **4**, 385.
80. — Répartition de l'hydrastine entre les globules rouges et le plasma. *J. P. C.*, 1930, **12**, 339.
81. — De l'emploi de l'électrodialyse dans la recherche toxicologique. *J. P. C.*, 1938, **27**, 467.
82. FABRE (R.) et OFICJALSKI (P.). — Application de l'électrodialyse à l'extraction des alcaloïdes : 1) Dans quelques drogues et préparations pharmaceutiques. *J. P. C.*, 1938, **28**, 335.
83. — Applications de l'électrodialyse à l'extraction des alcaloïdes : II) Recherche toxicologique de la strychnine. *J. P. C.*, 1938, **28**, 369.
84. FABRE (R.) et SIMONNET (H.). — Contribution à l'étude de l'hémolyse. *Ann. Physiol. et Physico-chim. biol.*, 1928, **4**, 531.
85. FEILER (M.). — Über die Chininwirkung auf die Tierzelle. *Arch. f. Protistenk*, 1927, **59**, 562 et 1928, **61**, 119.
86. — Weitere Untersuchungen über die oligodynamen Wirkungen der Alkaloide auf *Paramecium caudatum*. *Arch. f. Protistenk*, 1929, **67**, 157.

87. FISCHER (G.). — Studien zur Haemolyse. *Pflüger's Arch.*, 1910, 134, 45.
88. FISCHER (M. H.). — Über die Analogie zwischen der Wasserabsorption durch Fibrin und durch Muskel. *Pflüger's Arch.*, 1908, 124, 69.
89. FOURMENT (P.) et HERMANN (H.). — Sur la pénétration de la quinine dans les globules rouges. *B. S. P.*, 1930, 37, 348.
90. FOURNEAU (E.). — Préparation des médicaments organiques. J. B. Baillière édit. Paris, 1921, p. 94.
91. FOURNEAU (E.) et FOUARD (M.). — Essais sur des membranes lipoides artificielles. *Presse médicale*, 1914, 1, 4.
92. FOURNEAU (E.) et SAMDAHL (B.). — Sur deux nouvelles séries d'anesthésiques locaux dérivés de la pipérazine. *Bull. Soc. Chim.*, 1930, 47, 1003.
93. FOURNEAU (E.) et VULQUIN. — Sur le passage des médicaments en solution aqueuse à travers des membranes lipoides. *Bull. Soc. Chim.*, 1918, 23, 201.
94. FRÉDÉRICQ (H.) et LAPICQUE (M.). — Action de quelques dérivés quinoléiques sur la chronaxie du myocarde et de muscles divers. *Arch. int. Physiol.*, 1923, 21, 353.
95. FRIEDMANN (L.) et SHEARER (W. N.). — The effect of non-electrolytes upon Diffusion in gelatin gels. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1934, 56, 1323.
96. FUCHS (L.) et KAMPITSCH (A.). — Die Absorption der Wichtigsten China-Alkaloide im Ultraviolett. *Scientia Pharmaceutica*, novembre 1935 (tiré à part).
97. FUELNEGGAND, d'après TABONE (J.). — (310).
98. FÜHNER (H.). — Die narkotische Wirkung des Benzins und seiner Bestandteile (Pentan, Hexan, Heptan, Octan). *Biochem. Ztschr.*, 1921, 115, 235.
99. FUJITA (A.). — Untersuchungen über elektrische Erscheinungen und Ionendurchlässigkeit von Membranen. *Biochem. Ztschr.*, 1925, 158, 11 ; 159, 370 ; 162, 245.

G

100. GARDNER (J. H.), SEMB (J.) et GRAHAM (H. I.). — Active constituent of local anesthetic solutions. *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.*, 1934, 31, 1195.
101. GAUDIN (O.). — Recherches sur l'action physiologique des pyrèthrine. *Thèse Doct. ès Sc.* Paris, 1937.
102. GAUSE (G. F.). — Certain properties of curves of toxicity. *Protoplasma*, 1933, 17, 548.

103. GAVAUDAN (P.). — Sur quelques observations concernant la structure physique du cytoplasme d'un champignon hémi-ascomycète, l'*Ascoïdea rubescens*. Brefeld. *C. R. Acad. Sc.*, 1932, 195, 1039.
104. — Sur une certaine corrélation entre la réversibilité des phénomènes d'instabilité cytoplasmique et la disparition spontanée des colorations vitales du vacuome dans l'*Ascoïdea rubescens*. *C. R. Acad. Sc.*, 1933, 196, 563.
105. GELLHORN (E.). — Neuere Ergebnisse der Physiologie. F. C. W. Vogel, édit. Leipzig, 1926.
106. GELLHORN (E.) et RÉGNIER (J.). — La perméabilité en physiologie et en pathologie générale. Masson, édit. Paris, 1936.
107. GIEMSA (G.) et PROWAZEK (S.). — Wirkung des Chinins auf die Protistenzelle. *Arch. f. Schiffs u. Trop.*, 1908, 12, Beiheft 5, 88.
108. GIEMSA (G.) et SCHAUMANN (H.). — Pharmakologische und chemischphysiologische Studien über Chinin. *Arch. f. Schiffs u. Trop.*, 1907, 11, Beiheft 3, 1.
109. GILLET (A. J.). — Action pharmacodynamique variable des sels d'alkaloïdes suivant la nature de l'acide salifiant. Application aux anesthésiques locaux et à la morphine. *Thèse Doct. Med.* Paris, 1941.
110. GIRARD (P.). — Osmose et diffusion d'ions à travers un septum polarisé. *Journ. Chim. Phys.*, 1919, 17, 394.
111. GLASSTONE (V. S.). — Electrochimie des solutions. Traduction P. Dupont et P. Jacquet. F. Alcan, édit. Paris, 1936.
112. GOLDSCHMIDT (R.) et PRIBRAM (E.). — Studien über die hämolytische Eigenschaft der Blutsera. I. Wirkung der Narkotika und Alkaloide auf das Complement. *Ztschr. f. exp. P. u. T.*, 1909, 6, 211.
113. GORBUNOWA (G. P.). — Ontogenie der Zelle und Fragen der Entwicklungsmechanik. *Biol. Z.*, 1937, 6, 393.
114. GOYENA (J. R.). — Sobre la utilidad del tratamiento quínico del cancer. *Semana Med. Buenos-Aires*, 1924, 31, 187.
115. GROS (O.). — Ueber Narkotika und Lokalanaesthetika. *Arch. f. exp. P. u. P.*, 1910, 62, 380, ; 1910, 63, 80 ; 1912, 66, 126 ; 1912, 67, 132.
116. GUÉNIN (J.). — Contribution à l'étude du gonflement des gels en présence de solutions alcaloïdiques. *Thèse Doct. Pharm.* Paris, 1939.
117. GUNDEL (M.) et SEITZ (L.). — Experimentelle Untersuchungen über die Chemotherapie von Pneumokokkeninfektionen (Chinin-Weil, Chininum dehydrocholicum, Stronchin). *Arch. f. exp. P. u. P.*, 1933, 171, 519.

H

118. HACTER (R. A.) et WEISS (S.). — Studies on Quinin. *Journ. of Pharmacol.*, 1926, 29, 279.
119. HARTMANN (H.) et ZILA (L.). — Das Schicksal des Chinins im Organismus. *Arch. f. exp. P. u. P.*, 1918, 83, 221.
120. HAUBACH. — Über die biologische Wirkung verschiedener Salzlösungen auf das zu infiltrierende Gewebe und seine Zellen. *Vjschr. Zahnheilk.*, 1932, 48, 378.
121. HEIM (F.). — Der Einfluss des Harnstoffes auf die Hydratation von Eiweiss. *Biochem. Ztschr.*, 1937, 291, 88.
122. HENRY (T. A.) et BROWN (H. C.). — The influence of the medium on the toxicity of certain alkaloïds towards protozoa. *Trans. Roy. Soc. Tropical Med. Hyg.*, 1923, 17, 61.
123. HESSE (O.). — Sur les alcaloïdes des écorces de quinquina. *Mon. Sc.*, 1878, 240.
124. HÖBER (R.). — Beiträge zur physiologischen Chemie der Erregung und der Narkose. *Pflüger's Arch.*, 1907, 120, 492.
125. — Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. Engelmann, édit. Leipzig, 1926.
126. HOFMEISTER (F.). — Zur Lehre von der Wirkung der Salze. *Arch. f. exp. P. u. P.*, 1891, 28, 210.
127. HRYNAKOWSKI (K.), CHWOJKA (S.) et ZOCHOWSKI (A.). — Untersuchungen über Löslichkeit und Leitfähigkeit von Chinin, Cinchonin und einiger ihrer Salze, sowie die Bestimmung der Bitterkeit von Chinin. *Posen Univ. Kron. farmac.*, 1938, 36, 317, et 37, 1.
128. HRYNAKOWSKI (M. C.). — L'influence du pH sur la vitesse de diffusion de l'ion Cl^+ à travers les membranes de colloïdion. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1933, 15, 1146.

I

129. INTERNATIONAL SOCIETY OF LEATHER TRADE'S CHEMISTS. — The swelling of proteins and allied phenomena. Londres, 1933.

J

130. JANCZO (N. V.). — Beobachtung chemotherapeutischer Vorgänge im fluorescenz Mikroskop. *Klin. Woch.*, 1932, 1, 689.
131. JEANSELME et DALIMIER. — De l'élimination de la quinine par les urines. *Presse médicale*, 1917, août 441.

132. JIROVEC (O.) et BOUSE (V.). — Chinin und ultraviolett Strahlen. *Ztschr. f. Immunitäts*, 1933, 78, 100.
133. JOACHIMOGLU (G.). — Die Wirkung einiger Verwandten des Chloroforms mit besonderer Berücksichtigung der Traubeschens Theorie über die Wirkung der Narkotica der Fettreihe. *Biochem. Ztschr.* 1921, 120, 203.
134. JOHANNESSEN (Fr.). — Chinin, in der allgemeinpraxis. Bureau tot bevordering van het Kinine-Gebruik, édit. Amsterdam, 1932.
135. JOHNSON (F. F.). — Solubility and hydrogen-ion concentration of quinine salts. I. Effect of the Quinoline and Quinuclidine nitrogens. II. A new series of double Quinine salts. *J. Amer. Pharm. Assoc.*, 1937, 26, 1227 et 1231.
136. JORIOT (R.). — De l'influence exercée sur le développement des germes de lupin, par une solution alcaloïdique. *Thèse Doct. Pharm.* Paris, 1937.

K

137. KAHLSON (G.) et WERZ (R. v.). — Die Erregbarkeit des narkotisierten Nerven als Kriterium seiner Polarisierbarkeit ; ein Deutungsversuch der narkotischen Erregbarkeitsaufhebung. *Skand. Arch. Physiol.*, 1936, 74, 163.
138. KAISER (F. J.). — Der Chininspiegel im Blute. *Arch. Int. Pharm. et Ther.*, 1940, 64, 215.
139. KATZ (J.). — Über die Ausscheidung des Chinins beim Hunde und über eine neue Methode der quantitativen Chininbestimmung. *Biochem. Ztschr.*, 1911, 36, 144.
140. KEHAR (N. D.). — Some aspects of the behaviour of Cinchona alkaloids towards living cells. *Ind. Journ. of Med. Research*, 1931, 18, 203.
141. KEMKES (B.). — Zur Chemotherapie der Pneumokokkeninfektion. *Klin. Woch.*, 1937, 16, 30 et 1041 et 1938, 12, 1484.
142. KENT (W. S.). — A manual of the infusoria, t. 2. Atlas (planche 45, fig. 39 et 40). Londres, 1881-1882.
143. KERNER (G.). — Beiträge zur Kenntniss der Chininresorption. *Pflüger's Arch.*, 1870, 3, 93.
144. KINDLER (K.). — Über Amine in ihrer Bedeutung für die Chemotherapie. *Arch. Pharm.*, 1934, 272, 811.
145. KLEINE (F. K.). — Ueber die Resorption von Chininsalzen. *Ztschr. f. Hyg. u. Infekt.*, 1901, 38, 458.
146. KNOEVENAGEL (E.). — Ueber die Natur der Quellungsvorgänge.

- Koll. chem. Beihefte*, 1920-1921, 13, 193, 233, 242, 262 et 1922 14, 1.
147. KOCHMANN (M.). — Einfluss der Narkotica der Fettreihe auf den Quellungszustand der Zellkolloide. *Biochem. Ztschr.*, 1923, 136, 49.
148. KOEPPE (H.). — Über das Lackfarbenwerden der roten Blutscheiben. *Pflüger's Arch.*, 1903, 99, 33.
149. KOHLER (D.). — Influence du pH sur l'imbibition des laminaires. *C. R. Soc. Biol.*, 1936, 122, 177. Variations de l'imbibition dues au déplacement réciproque des cations fixés sur les tissus morts de *Laminaria flexicaulis*. *C. R. Soc. Biol.*, 1936, 123, 394.
150. KOLTHOFF (V.). — Détermination de la concentration des ions hydrogène. Traduction E. Vellinger ; Gauthier-Villars, édit. Paris, 1926.
151. KOMAROV (S.). — Über die Quellung des Nerven in Kalium und Calcium chloridlösungen bei verschiedenen pH. *Issl. bol. fiz. chim. dim. nerv. process.*, 1932, 92, 94.
152. KOPACZEWSKI (W.). — Sur la dialyse de la maltase. *Ann. Inst. Pasteur*, 1913, 27, 528.
153. — La tension superficielle et la narcose. *C. R. Acad. Sc.*, 1922, 174, 321.
154. — La tension superficielle, le gonflement et la narcose. *C. R. Acad. Sc.*, 1923, 176, 1577.
155. — Traité de Biocolloïdologie. Gauthier-Villars, édit. Paris, 1932.
156. KOPPANYI (T.), MURPHY (W. S.) et KROP (S.). — Studies on barbiturates. *Arch. Int. Pharm. et Ther.*, 1933, 46, 76.
157. KOSTITZIN (V. A.). — Sur la perméabilité des membranes. *C. R. Acad. Sc.*, 1940, 211, 62. — Sur le passage du chlorhydrate de novocaïne à travers une membrane inerte (cellophane). *C. R. Acad. Sc.*, 1940, 211, 353.
158. KRUKENBERG, d'après BINZ (C.). — (25).
159. KÜNH (A.). — Die Quellung der Gelatine in Wässerigen Lösungen organischen Säuren. *Kolloid-Beihefte*, 1921, 14, 147.
160. KUNKEL (A. J.). — Handbuch der Toxikologie. G. Fischer, édit. Iena, 1901.
161. KÜNTZEL (A.). — Untersuchungen über die Quellung der Gelatin in Wässerigen Lösungen von Säuren, Basen und Salzen und deren Gemische. *Biochem. Ztschr.*, 1929, 209, 326.
162. KÜTHY (A. v.). — Über die Wirkung oberflächen aktiver Stoffe auf die Gelatine. *Biochem. Ztschr.*, 1932, 244, 319.

L

163. LAPICQUE (L.). — Variation saisonnière dans la composition chimique des algues marines. *C. R. Acad. Sc.*, 1919, 169, 1426.
164. LAPICQUE (L.) et LEGENDRE (R.). — Sur les altérations de la gaine de myéline, produites par divers poisons nerveux. *C. R. Acad. Sc.*, 1914, 158, 1592.
165. LAPP (Ch.). — Nouvelle méthode de dosage polarimétrique de la quinine et de ses sels. *Ann. Chim. An.*, 1933, 15, 289 et *C. R. Acad. Sc.*, 1933, 196, 970.
166. LARROUTOUROU. — Etudes sur la fluorescence de la quinine. *B. P. B.*, 1907 et 1908, d'après MONNET (R.), (207).
167. LATASTE (C.), FARINAND (M. F.) et NGUYEN van LIEN. — La répartition érythroplasmatique de la quinacrine. *C. R. Soc. Biol.*, 1939, 130, 522.
168. LAUNOY (L.) et FUJIMORI (Y.). — Documents sur quelques anesthésiques locaux. *C. R. Soc. Biol.*, 1919, 82, 732.
169. LAUNOY (L.) et LAGODSKY (H.). — Exposé synthétique sur les plasmodes parasites des hématies d'oiseaux et de simiens. *Biol. Méd.*, 1940, 30, 174.
170. LEBEAU (P.) et COURTOIS (G.). — Traité de pharmacie chimique, t. 2, fasc. 2. Masson, édit. Paris, 1938.
171. LEFÈVRE (M.). — Recherches sur la biologie et la systématique de quelques algues obtenues en cultures. *Revue algologique*, 1932, 6, 313. — Technique des cultures cloniques de Desmidiées. *Ann. Sc. Nat. Botanique*, 1937, 19, 325.
172. LEPOW (S. S.). — Some reactions of slime mould protoplasm to certain alkaloids and snake venoms. *Protoplasma*, 1938, 31, 161.
173. LEUZE (E.), d'après ZUNZ (E.). — (339).
174. LIEBIG (J. v.). — Ueber die Gährung und die Quelle der Muskelkraft. *Ann. d. Chemie u. Pharm.*, 1870, 153, 152.
175. LIPKIN (I. J.). — On the distribution and destruction of quinine in animal tissues. *Ann. of Trop. Med. a. Hyg.*, 1919, 13, 149.
176. LIQUIER (Mlle). — Etude sur le pouvoir rotatoire des solutions aqueuses des électrolytes en relation avec la concentration et l'activité des ions hydrogène. *Thèse Doct. ès Sc.*, Paris, 1927.
177. LISBONNE (M.) et VULQUIN (E.). — La dialyse électrique des diastases. *Journ. Physiol. et Path. gén.*, 1913, 15, 23.

178. LISON (L.) et FAUTREZ (J.). — L'étude physicochimique des colorants dans ses applications biologiques. *Protoplasma*, 1939, 33, 116.
179. LLOYD (D. I.). — Proteine swelling and molecular organisation, dans (129).
180. LOEB (J.). — Versuche am Muskel. *Pflüger's Arch.*, 1898, 69, 1.
181. — Les protéines. Traduction H. Mouton, Alcan, édit. Paris, 1924.
182. LOISEL (G.). — L'osmose, ses véritables lois. *Société libre d'émulation du Commerce et de l'Industrie de la Seine-Inférieure*. Lainé, édit. Rouen, 1938.
183. LUTZ (L.). — Recherches sur la nutrition des végétaux à l'aide de substances azotées de nature organique. *Thèse Doct. ès Sc.*, Paris, 1899.
184. LWOFF (A.). — Recherches biochimiques sur la nutrition des protozoaires. Le pouvoir de synthèse. *Thèse Doct. ès Sc.* Paris, 1932.
185. MAC DONALD, d'après SOLLMANN (T.). — A manual of Pharmacology and its applications to therapeutics and toxicology. 4^e édit. Saunders, édit. Philadelphie. Londres, 1932.
186. MAC GILCHRIST (A. C.). — Quinine and its salts: their solubility and absorbability. *Sc. Mem. (b. off. of the Med. a. san. Dep. of the Gov. of India*, 1911, n° 41.
187. MACGREGOR (R. G.) et THORPE (W. v.). — The quantitative extraction of histamine from tissues by électrodialysis. *Bioch. Journ.*, 1933, 27, 1394.
188. MACHT (D. I.). — The influence of light on the toxicity of quinidin and quinin sulphates. *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.*, 1922, 19, 397.
189. MACHT (D. I.) et LEVINGSTON (M. B.). — Effect of cocaïne on the growth of *Lupinus albus* a contribution to the comparative pharmacology of animal and plant protoplasma. *Journ. of gen. Physiol.*, 1922, 4, 573.
190. MACHT (D. I.) et TEAGRADEN (E. J.). — The effect of light on the behaviour of rats after injections of quinin and quinidin sulphates. *Journ. of Pharmacol.*, 1923, 22, 21.
191. MANCA (G.). — Influence de la cocaïne sur la résistance des globules rouges du sang. *Arch. ital. de biol.*, 1895, 23, 391.
192. MARCASSI. — Studio comparativo del azione di alcuni alcaloïdi sulle piante nella oscurita a alla luce. *Nuovo Giorn. Botan. Ital.*, 1895.
193. MATTEI (P.). — Influenza dell'uretano etilico sulla distribu-

- zione della chinina nel sangue. *Arch. Int. Pharm. et Ther.*, 1930, 38, 78.
194. MAURIN (E.). — Elimination urinaire de la quinine. *Répert. de Pharm. Paris*, 1918, 29, 221.
195. MAYEDA (S.). — Beiträge zur Erforschung des Wirkungsmechanismus der China-Alkaloide bei freilebenden Organismen. *Arch. f. Schiffs u. Trop.*, 1928, 32, 129.
196. — Die Wirkungsstärke der Alkaloide und ihr Hydrolysengrad in gepufferten Lösungen als Funktion der Wasserstoffionenkonzentration des Mediums. *Biochem. Ztschr.*, 1928, 197, 410.
197. MESTREZAT (W.) et GARREAU (Y.). — Contribution expérimentale à l'étude du transport des électrolytes. Mobilisation des ions par échanges intermoléculaires. *C. R. Acad. Sc.*, 1925, 180, 1069 et 1266.
198. MEYER (H. H.) et GOTTLIEB (R.). — Die experimentelle Pharmakologie. 8^e édit. Urban, édit. Berlin et Vienne, 1933.
199. MEYER (K. H.) et HEMMI (H.). — Beiträge zur Theorie der Narkose. *Biochem. Ztschr.*, 1935, 277, 39.
200. MEZZACHOLI (G.) et AMATI (A.). — Action de quelques alcaloïdes sur le développement de l'*Aspergillus niger*. *C. R. Acad. Sc.*, 1932, 16, 366.
201. MICHAËLIS (L.). — The effects of ions in colloidal systems. Conference. — Williams a. Williams Co., édit. Baltimore, 1925.
202. — Contribution to the theory of permeability of membranes for electrolytes. *Journ. of Gen. Physiol.*, 1925, 8, 33. — Die Permeabilität von Membranen. *Naturwiss.*, 1926, 14, 33.
203. MILANESI (E.). — Intensità di azione dei sali di chinina in rapporto alla loro fluorescenza. *Boll. Soc. Ital. Biol. sper.*, 1928, 3, 1185.
204. MOLDOVAN (J.). — Untersuchungen über die Wirkungsweise des Chinins. *Biochem. Ztschr.*, 1912, 47, 421.
205. MOMMSEN (H.). — Versuche über den Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die Dialyseggeschwindigkeit. *Ztschr. physik. chem.*, 1925, 118, 347.
206. MOND (R.) et HOFFMANN (F.). — Untersuchungen an künstlichen Membranen die elektiv anionenpermeabel sind. *Pflüger's Arch.*, 1928, 220, 194.
207. MONNET (R.). — Le dosage des alcaloïdes du quinquina. *Thèse Pharm. Sup. Alger*, 1936.
208. MONZIOLS et CASTELS. — Toxicité comparée de la quinine injectée en solution physiologique et en solution huileuse

- dans les muscles et dans les veines du chien. *C. R. Soc. Biol.*, 1920, 83, 1038.
209. MOON (V. H.). — The effect of quinine on rabies in dogs. *Journ. of infec. dis.*, 1913, 13, 165.
210. MORGENROTH (J.). — Zur Kenntnis der Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und chemotherapeutischer Wirkung. *Klin. Woch.*, 1917, 1, 55.
211. MORGENROTH (J.) et GINSBERG (S.). — Über die Wirkung der Chinaalkaloide auf die Cornea. *Klin. Woch.*, 1912, 49, 2183. — Hornhautanaesthesie durch Chinaalkaloide. *Klin. Woch.*, 1913, 50, 343.
212. MORGENROTH (J.) et KAUFMANN (M.). — Zur experimentellen Chemotherapie der Pneumokokkeninfektion. *Ztschr. f. Immunität*, 1913, 18, 145.
213. MORKOWINE (M.). — Recherches sur l'influence des alcaloïdes sur la respiration des plantes. *Rev. Gén. de Bot.*, 1901, 13, 109 et 212.
214. MORSE (H. W.) et PIERCE (G. W.). — Diffusion und Übersättigung in Gelatine. *Ztschr. Physik. Chem.*, 1903, 45, 589.
215. MULLER (Fr.), d'après ROHDE (E.). — (279).
216. NASSONOV (M. D. N.). — L'influence des non-électrolytes sur la teneur en eau des muscles vivants et de la gélatine en état de gonflement. *Ann. Physiol. et Physico-chim. Biol.*, 1938, 14, 659.

N

217. NEUFELD et SCHIEMANN. — Ueber die Wirkung chemotherapeutischer Stoffe auf verschiedene Bakterien *in vivo* und *in vitro*. *Centralbl. f. Bakt. I. Abt. Iena*, 1913, 57, 183.
218. NICLOUX (M.) et YOVANOVITCH (A.). — Répartition de l'éthylène entre les globules et le plasma *in vitro* et au cours de l'anesthésie. *C. R. Soc. Biol.*, 1925, 93, 1657.
219. NISHI (M.). — Über eine neue Bestimmungsmethode des Chinins und über seine Ausscheidung im Harne. *Arch. f. exp. P. u. P.*, 1909, 60, 312.
220. NOBÉCOURT (P.). — Action de quelques alcaloïdes sur le *Botrytis cinerea*. *C. R. Acad. Sc.*, 1921, 172, 706.
221. NOCHT (B.) et KIKUTH (W.). — Über hämolytische Chininwirkung. *Arch. f. Schiffs u. Trop.*, 1929, 33, 355.

O

222. OELKERS (H. A.). — Studien über die Quellung von Organen. *Arch. f. exp. P. u. P.*, 1932, 164, 582.

223. ORMSBY (R.). — Neosalvarsan. Intramuscular or intravenous? *N. Y. Med. Journ.*, 1913, 98, 83.
224. OSTWALD (W.). — Über feinere Quellungserscheinungen von Gelatine in Salzlösungen nebst allgemeineren Bemerkungen zur physikalisch-chemischen Analyse der Quellungskurven in Elektrolyten. *Pflüger's Arch.*, 1906, 111, 581.
225. — Manipulations de chimie colloïdale. Traduction E. Vellingier. Gauthier-Villars. édit. Paris.
226. OUDEMANS Jr. (A. C.). — Sur l'influence que les agents de dissolution optiquement inactifs exercent sur le pouvoir rotatoire spécifique des matières actives. *Arch. Néerl.*, t. 8, d'après *J. P. C.*, 1873, 18, 251.
227. — Sur les lois qui régissent la variation du pouvoir rotatoire spécifique des alcaloïdes sous l'influence des acides. *R. Tr. Ch. P. B.*, 1882, 1, 18.

P

228. PANTSCHENKOW (M. M.) et KIRSTNER (A. A.). — Die quantitative Bestimmung des Chinins im Blute. *Arch. f. Schiffs u. Trop.*, 1928, 32, 137.
229. PERROTTET (S.). — Etude optique de la quinine et de ses sels. *Thèse Doct. Pharm.* Montpellier, 1934.
230. PEYROT (P.). — Le facteur de dépolarisation de la lumière diffusée par les liquides. *Thèse Pharm. Sup.* Montpellier, 1934.
231. PONDER (D.) et ABELS (S. C.). — Effect of quinine hydrochloride on resistance of rabbit red cells. *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.*, 1936, 34, 162.
232. PORTIER (P.) et LOPEZ-LOMBA (J.). — Utilisation des poissons de petite taille pour la découverte de faibles quantités de substances toxiques. *C. R. Soc. Biol.*, 1922, 87, 1165.
233. POULSSON (E.). — Lehrbuch der Pharmakologie, 10^e édit. Hirzel, édit. Leipzig, 1934.
234. PRENANT (M.). — Leçons de zoologie. Protozoaires. Infusoires ciliés. Hermann et Cie, édit. Paris, 1935.
235. PRIBRAM (E.). — Ueber Beziehung zwischen chemischer Konstitution, physikalisch-chemischen Eigenschaften und pharmakodynamischen Wirkungen. *Wiener. Klin. Woch.*, 1908, 21, 30.
236. — Zur Frage der Kokainhämolysen. *Pflüger's Arch.*, 1911, 137, 350.

237. PROCTER (H. R.) et WILSON (J. A.). — The Acid-Gelatin equilibrium. *Journ. Chem. Soc.*, 1916, 109, 307.
238. PROWAZEK (S. v.). — Giftwirkung und Protozoenplasma. *Arch. f. Protistenk.*, 1910, 18, 221.
239. PRUDHOMME (R. O.). — Nouvelle méthode colorimétrique de dosage de la quinine dans les liquides biologiques et les organes. *J. P. C.*, 1940, 1, 8.

Q

240. QUEVAUVILLER (A.). — Recherches sur l'excitabilité du nerf moteur au courant galvanique. Etude quantitative de ses variations et de celles de ses paramètres (chronaxie et rhéobase) sous l'influence des anesthésiques locaux. *Thèse Pharm. Sup.* Paris, 1938.

R

241. RAMSDEN (W.), LIPKIN (I. J.) et WHITLEY (E.). — On quinine in animal tissues and liquids, with methods for its estimation. *Ann. of Trop. Med. a. Hyg.*, 1918, 12, 223.
242. REGNAULD (J.) et VILLEJEAN (E.). — Recherches expérimentales sur la solubilité de sels médicaux de quinine. *J. P. C.*, 1887, 15, 110 et 129.
243. RÉGNIER (J.). — Mesure de l'anesthésie produite sur les terminaisons nerveuses de la cornée par les anesthésiques locaux. Comparaison des pouvoirs anesthésiques de la cocaïne, de la novocaïne et de la stovaïne. *C. R. Acad. Sc.*, 1923, 177, 558 et *B. S. P.*, 1923, 30, 580.
244. — Méthodes de mesure de l'activité des anesthésiques locaux. *Thèse Doct. Méd.* Paris, 1929.
245. RÉGNIER (J.), ARDITI (M.), BAZIN (S.) et CHANTEREAU (S.). — Détermination, par mesures de conductivité, des coefficients d'ionisation et des constantes de dissociation de divers sels de paraaminobenzoyldiéthylaminoéthanol. *C. R. Soc. Biol.*, 1941, 135, 1505.
246. — Etude de l'hydrolyse de divers sels de paraaminobenzoyldiéthylaminoéthanol. Détermination du degré et de la constante d'hydrolyse. *C. R. Soc. Biol.*, 1941, 135, 1552.
247. RÉGNIER (J.), BAZIN (S.) et CHANTEREAU (S.). — Etude cryoscopique des solutions de divers sels de paraaminobenzoyldiéthylaminoéthanol. *C. R. Soc. Biol.*, 1942, 136 30.

248. RÉGNIER (J.), BAZIN (S.) et PELLETIER (J.). — Action de différents sels de paraaminobenzoyldiéthylaminoéthanol sur les sols de résine mastic et d'alumine colloïdale. *C. R. Soc. Biol.*, 1942, 136, 467.
249. RÉGNIER (J.) et DAVID (R.). — Sur le maintien de l'activité physiologique des solutions de chlorhydrate de cocaïne. *B. S. P.*, 1934, 41, 321.
250. — Influence de l'anion combiné à la base cocaïne sur l'activité anesthésique de cet alcaloïde. *C. R. Acad. Sc.*, 1935, 200, 1428.
251. — De la tension superficielle de divers sels de paraaminobenzoyldiéthylaminoéthanol (base de la novocaïne) en solutions aqueuses équivalentes en base. *C. R. Soc. Biol.*, 1938, 127, 1223.
252. RÉGNIER (J.), DAVID (R.) et BAZIN (S.). — Influence de l'acide combiné à la cocaïne sur l'action exercée par cet alcaloïde sur les feuilles d'*Elodea canadensis*. Quelques remarques à propos des « actions toxiques potentielles ». *C. R. Soc. Biol.*, 1939, 131, 229.
253. RÉGNIER (J.), DAVID (R.) et JEAN (P.). — Etude comparative des adsorptions du paraaminobenzoyldiéthylaminoéthanol à partir des différents sels de cette base : chlorhydrate, citrate, phénylpropionate. *C. R. Soc. Biol.*, 1941, 135, 185.
254. RÉGNIER (J.), DAVID (R.) et JORIOT (R.). — Influence de la concentration en ions H de la solution nutritive sur la croissance de jeunes racines de lupin blanc Contribution à la mise au point de techniques pharmacologiques. Mesure des actions toxiques exercées sur la cellule végétale. *C. R. Soc. Biol.*, 1937, 125, 1011, 1012, 1014.
255. RÉGNIER (J.), DAVID (R.) et SITRI (R.). — De l'influence de l'acide combiné au paraaminobenzoyldiéthylaminoéthanol sur l'action exercée par cette base sur *Gasterosteus aculeatus* (Épinoche). *C. R. Soc. Biol.*, 1939, 131, 726.
256. RÉGNIER (J.), DELANGE (R.) et DAVID (R.). — De l'influence de l'acide combiné à la base sur le pouvoir anesthésique de différents sels de paraaminobenzoyldiéthylaminoéthanol. *C. R. Acad. Sc.*, 1936, 202, 591. Des propriétés anesthésiques de nouveaux sels de paraaminobenzoyldiéthylaminoéthanol. Utilisation clinique du phénylpropionate et de l'isobutyrate. *Anesth. et Analg.*, 1936, 2, 267.
257. RÉGNIER (J.), GAVAUDAN (P.) et QUEVAUVILLER (A.). — Action des anesthésiques locaux sur la cellule végétale. L'état de la cellule (équilibre cytoplasme-vacuome) d'un champignon hémiacomycète, l'*Ascoïdea rubescens* (Brefeld)

- permet de mettre en évidence avec le chlorhydrate de cocaïne, une « action toxique potentielle ». *B. S. P.*, 1939, 46, 321.
258. RÉGNIER (J.) et LAMBIN (S.). — De l'influence exercée par différents sels de morphine injectés en solution intraveineuse au lapin, sur la dépression du réflexe oculo-palpébral. *C. R. Soc. Biol.*, 1938, 127, 113.
259. — De l'influence de l'acide combiné à la morphine sur la rapidité et l'ampleur de l'élimination urinaire de cet alcaloïde. *C. R. Soc. Biol.*, 1938, 127, 294.
260. RÉGNIER (J.), LAMBIN (S.) et SZOLLOSI (E.). — Données générales sur la mesure, le calcul et l'expression du pouvoir toxique des substances médicamenteuses. *Journ. Physiol. et Path. gén.*, 1937, 35, 329, 709 et 950.
261. RÉGNIER (J.) et QUEVAUVILLER (A.). — Comparaison de l'activité anesthésique, sur le nerf moteur de *Rana esculenta*, de deux sels de paraaminobenzoyldiéthylaminoéthanol : chlorhydrate et phénylpropionate. *C. R. Soc. Biol.*, 1936, 122, 251. Des actions exercées sur le nerf, en milieu privé d'électrolytes, par le citrate de la base novocaïne et le citrate de morphine. Comportement qualitatif différent selon les concentrations. *C. R. Soc. Biol.*, 1937, 125, 627.
262. — De l'influence de la nature de l'acide sur l'action qu'exercent sur le nerf moteur, différents sels de la base novocaïne et de morphine ; comportement qualitatif différent suivant les concentrations. *C. R. Acad. Sc.*, 1937, 205, 251.
263. — Etude quantitative de l'action des anesthésiques locaux sur le nerf isolé, par la mesure de la chronaxie et par celle de l'expression énergétique de l'excitabilité (H. Lassalle, L. Lapique) en tenant compte des modifications de la résistance électrique du nerf produites sous l'influence des substances étudiées. *Journ. Physiol. et Path. gén.*, 1938, 36, 629 et 1021.
264. — Quantitative Studie der Wirkung der Lokalanaesthetica auf den isolierten Nerven durch die Messung der Chronaxie (L. Lapique). Energetische Formel der Erregbarkeit (H. Lassalle und L. Lapique) unter Berücksichtigung der Veränderungen der elektrischen Resistenz der Nerven. *Arch. f. exp. P. u. P.*, 1939, 193, 48.
265. — Action de divers sels de paraaminobenzoyldiéthylaminoéthanol sur les filaments mycéliens de l'*Ascoïdea rubescens* (Brefeld). *C. R. Soc. Biol.*, 1939, 131, 68.
266. — L'action mydriatique de l'atropine sur l'œil énucléé de

- grenouille, varie avec l'acide qui salifie cette base. Comparaison de l'action exercée par le sulfate, le phénylpropionate et le citrate d'atropine. *C. R. Soc. Biol.*, 1939, 130, 1461.
- 267 — Comparaison des rapidités de diffusion, en eau distillée, de solutions équimoléculaires de divers sels de paraaminobenzoyldiéthylaminoéthanol. *C. R. Soc. Biol.*, 1939, 132, 219.
268. RÉGNIER (J.), QUEVAUVILLER (A.) et FIEYRE (A.). — Anesthésie locale et propriétés physico-chimiques. *B. S. P.* 1940, 47, 15, 20 et 69.
269. RÉGNIER (J.), QUEVAUVILLER (A.) et GÉRARD (P.). — Etude comparative des solubilités de différents sels de paraaminobenzoyldiéthylaminoéthanol (base de la novocaïne) *C. R. Soc. Biol.*, 1942, 136, 484.
270. RÉGNIER (J.), QUEVAUVILLER (A.) et GUÉNIN (J.). — La nature de l'acide qui salifie le paraaminobenzoyldiéthylaminoéthanol influence l'action exercée par cette base anesthésique locale sur l'imbibition du muscle strié. *C. R. Soc. Biol.*, 1939, 131, 728.
271. RÉGNIER (J.), QUEVAUVILLER (A.) et JEAN-BAPTISTE (A.). — Influence de l'acide qui salifie l'émétine sur la toxicité de cet alcaloïde pour quelques protistes. *C. R. Soc. Biol.*, 1943, 137.
272. RENESCU (N.) et DOROGAN (D.). — Chronaximetrische und ultramikroskopische Veränderungen der Nerven durch Einwirkungen von Antipyrin, Pyramidon und Chinin. *Arch. f. exp. P. u. P.*, 1932, 167, 251.
273. RÉVEIL (O. P.). — De l'action des poisons sur les plantes. *Thèse Doct. ès. Sc.* Lyon, 1865.
274. RICHAUD (A.) et HAZARD (R.). — Précis de thérapeutique et de pharmacologie, 7^e édit. Masson, édit. Paris, 1935.
275. RICHET (Ch.). — Note sur le rapport entre la toxicité et les propriétés physiques des corps. *C. R. Soc. Biol.*, 1893, 45, 775.
276. RISSE (O.). — Über die Durchlässigkeit von Kollodium und Eiweissmembranen für einige Ampholyte. II. Quellungseinflüsse. *Pflüger's Arch.*, 1926, 213, 685.
277. RODHAIN (J.). — Entamoeba invadens N. sp., parasite de serpents. *C. R. Soc. Biol.*, 1934, 117, 1195.
278. ROEHL (W.). — Die Wirkung des Plasmochins auf die Vogel-malaria. *Arch. f. Schiffs u. Trop.*, 1926, 31, supp. n° 1, 7.
279. ROHDE (E.). — Pyridin, Chinolin, Chinin, Chininderivate. *Handbuch d. Exper. Pharmak. A. Heffter*, t. 2, J. Springer, édit. Berlin, 1920.

280. ROLLÉ (R.). — Contribution à l'étude de l'action du sulfate de quinine sur *Amoeba dubia*. *Thèse Doct. Pharm.*, Paris, 1939.
281. RONA (P.) et BLOCH (E.). — Untersuchungen über die Bindung des Chinins an die roten Blutkörperchen und über die Verteilung des Chinins im Blute. *Biochem. Ztschr.*, 1921, 121, 235.
282. ROSKIN (G. R.). — Die Wirkung von Arzneistoffen auf die Zelle. *Ztschr. f. Immunitäts*, 1935, 84, 261.
283. ROSKIN (G. H.) et DUNE (Ed.). — Zur Frage über die Wirkung des Chinins auf die Zelle. *Arch. f. Protistenk.*, 1929, 66, 346.
284. ROSKIN (G. R.) et ROMANOVA (K.). — The action on paramecia of quinine irradiated with ultraviolet light. *Ztschr. f. Immunitäts*, 1929, 62, 147.

S

285. SANCHEZ (A.). — D'une nouvelle réaction chromatique de la quinine, de la quinidine et de la cupréine, et de son application au dosage de la quinine. *J. P. C.*, 1935, 21, 24.
286. SANTESSON (C. G.). — Über den Einflusz einiger China-Alkaloide auf die Leitungsfähigkeit der Kaltblütermuskeln. *Arch. f. exp. P. u. P.*, 1892, 30, 411.
287. SAPHIR, *Med. Klin*, 1928, d'après RENESCU (N.) et DOROGAN (D.) (272).
288. SARASI LAL SARKAR. — The action of quinine on *P. caudatum*. *Arch. f. Protistenk*, 1936, 87, 268.
289. SCHAEFER (G. L.). — Quinine and urea hydrochloride. *Pharm. Journ.*, 1910, 30, 324.
290. SCHEPELMANN (E.). — Chinin als Lokalanästheticum. *Ther. der. Gegenwart*, 1911, 52, 545.
291. SCHERSCHNEW (P. A.). — Die Anwendung der Elektrodialyse zur Isolierung des Carnosins aus dem Muskelextrakt. *Arch. biol. Nauk.*, 1935, 37, 377.
292. SCHMENGLER (F. E. v.). — Über die Permeabilität getrockneter Kollodiummembranen für Aminosäuren im Vergleich zu organischen Nichtelektrolyten. *Pflüger's Arch.*, 1933, 232, 591.
293. SCHMITZ (R.). — Über Ausscheidung und Bestimmung des Chinins in Harn und Faeces. *Arch. f. exp. P. u. P.*, 1907, 56, 301.

294. SCHNABEL (A.). — Zum Mechanismus der antihämolytischen Wirkung der Chinaalkaloide. *Ztschr. f. Immunitäts*, 1921, 32, 153.
295. SCHÖNHEYDER (Fr.). — Über die Durchlässigkeit der Blutkörperchen für Malonamid. *Skand. Arch. Physiol.*, 1934, 71, 39.
296. SCHRYVER (S. B.). — The formation of a gel from cholate solutions having many properties analogous to those of cell membranes. *Proc. Roy. Soc. B.*, 1914, 87, 366.
297. SCHWARTZ. — Wirkung von Alkaloiden auf Pflanzen in Licht und Dunkel. *Inaugural Dissertation*, 1897, d'après JORJOT (R.) (136).
298. SEAGLIONI (C.). — L'assorbimento del chinino da parte dei collidi del sangue e diversi organi, *Arch. Ital. di Med. Sper.*, 1938, 4, 2.
299. SEVERIN (S. E.). — L'électrodialyse, méthode de séparation et de dosage des bases dans les liquides biologiques. I. Electro-dialyse des solutions aqueuses de carnosine, de créatine et de créatinine. *Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem.*, 1934, 130, 109, d'après *Ann. Chim. Anal.*, 1935, 17, 186.
300. SIEBURG (E.). — *Hand. d. prakt. u. wiss. Pharm.*, 1925, 4, 597, d'après GELLHORN (E.) et RÉGNIER (J.) (106).
301. SIGAULT (G.) et MESSERLIN (A.). — La maladie palustre. Réti-culo-endothéliose parasitaire. *Presse médicale*, 1938, 2, 1419.
302. SIGMUND (W.). — Über die Einwirkung von stoffwechselnde Produkten auf die Pflanzen, *Biochem. Ztschr.*, 1914, 62, 299.
303. SINTON (J. A.). — A clinical method for the estimation of the amount of quinine in medicinal solutions. *Ind. Journ. of Med. Research.*, 1925, 13, 25.
304. SIVADJIAN (J.). — Anesthésie et perméabilité. *B. S. P.*, 1933, 45, 292.
305. SOMOGYI (R.). — Quellung von Fibrin durch Säuren. *Biochem. Ztschr.*, 1921, 120, 103.
306. STEINBERG (A. D.). — Zur Pharmakologie des Akrichins. I. Mitt. Lokale Wirkung des Akrichins und seine Wirkung auf das Blut. *Fisiol. Z.*, 1937, 22, 252, d'après *Ber. über d. ges. physiol. u. pharm.*, 1937, 102, 661.
307. STERKIN (E. J.) et HELFGAT (J. I.). — Ein neues Reagens zur qualitativen und quantitativen (nephelometrischen) Bestimmung von Chinin. *Biochem. Ztschr.*, 1929, 207, 8.
308. STOKVIS. — Pharmacologie, 1905, d'après RENESCU (N.) et DOROGAN (D.) (272).

309. SWYNGEDAuw (J.). — Electrolyse et électroosmose dans la gélatine. *Thèse Doct. ès Sc.* Paris, 1939.

T

310. TABONE (J.). — Application de l'électrodialyse à la recherche toxicologique. *Thèse Pharm. Sup.* Paris, 1936.
311. TAPPEINER (H. v.). — Die photodynamische Erscheinung (Sensibilisierung) durch fluoreszierende Stoffe. *Ergebn. d. Physiol.*, 1909, 8, 698.
312. TCHAPKEWITCH (L. M.). — Über die Chininverteilung im Organismus nach Versuchen an angiotomierten Hunden. *Biochem. Ztschr.*, 1925, 164, 53.
313. THIEULIN (R.). — Recherches sur le passage des différents sels de syncaïne à travers les membranes imperméables aux sels minéraux. *C. R. Soc. Biol.*, 1920, 83, 1347.
314. TIFFENEAU (M.) et TORRÈS (C.). — Sur les propriétés hypnotiques de l'hydrobenzoïne et de ses homologues alcoylés (diarylglycols symétriques). Relations entre l'activité physiologique et le poids moléculaire. *C. R. Acad. Sc.*, 1924, 178, 237.
315. TINKER (Fr.). — The microscopic structure of semi permeables membranes and the part played by surface forces in osmosis. *Proc. Roy. Soc. A.*, 1916, 92, 357.
316. TOMINAGA (K.) et HAYASHI (I.). — Über die Beziehung zwischen chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung der Lokalanästhetika. I) Vergleichende Untersuchungen von Novocaïn, Tutocaïn, Cocaïn und Psicaïn. *The Nagoya Journ. of Med. Sc.*, 1927, 7, 1.
317. TRAUBE (J.). — Der Oberflächendruck und seine Bedeutung im Organismus. *Pflüger's Arch.*, 1904, 105, 559.
318. — Theorie der Narkose. *Pflüger's Arch.*, 1915, 160, 501.
319. TRAUBE (J.) et ONODERA. — Über den Kolloïdzustand von Alkaloiden. Beziehungen zwischen Oberflächenspannung, Teilchengrösse und Giftigkeit. *Internat. Ztschr. Physik-Chem. Biol.*, 1914, 1, 35.
320. TREVAN (J. W.) et BOOCK (E.). — The relation of hydrogen ion concentration to the action of local anesthetics. *Brit. Journ. of exp. path.*, 1927, 8, 307.
321. TRIBOT (J.) et CHRÉTIEN (H.). — Sur un hydrate colloïdal de fer obtenu par électrodialyse et sur quelques-unes de ses propriétés. *C. R. Acad. Sc.*, 1905, 140, 144.

322. TRONDLE (A.). — Neue Untersuchungen über die aufnahme von Stoffen in die Zelle. *Biochem. Ztschr.*, 1920, 112., 259.

V

323. VALETTE (G.). — Etude de la fixation de la quinine sur les paramécies au moyen de l'examen microscopique de la fluorescence. *C. R. Acad. Sc.*, 1935, 201, 681.
324. VALETTE (G.) et ROLLÉ (R.). — Etude de l'action de la quinine sur les amibes. Pénétration cellulaire et toxicité. *C. R. Acad. Sc.*, 1938, 207, 1071.
325. VARITCHAK (B.). — Contribution à l'étude du développement des Ascomycètes. *Thèse Doct. ès Sc.* Paris, 1931.
326. VAVRA (R.) et KIDERY (J.). — Adsorption de la strychnine par les globules rouges. Dosage chimique de la strychnine adsorbée par les globules rouges. *C. R. Soc. Biol.*, 1940, 132, 164 et 166.
327. VINCKE (E.) et NEVER (H. E.). — Vergleichende Untersuchungen über die pharmakologische Wirkung von Chinin-präparate und Sulfanilamid derivatea. *Arch. f. exp. P. u. P.*, 1940, 197, 78.
328. VLÈS (F.). — Cours de Physique biologique. « L'osmose et les propriétés liées à la concentration moléculaire des solutions ». Vigot édit. Paris, 1927.
329. — Précis de Chimie-physique. Vigot édit. Paris, 1929.
330. VOLMAR (Y.). — Variation de la fluorescence en fonction du pH. *B. S. C.*, 1927, 41, 302.

W

331. WARASI (W.). — Über das Problem der Chinin Wirkung. *Arch. f. Schiff's u. Trop.*, 1935, 38, 222.
332. WERNICKE (R.). — Application de l'électrodialyse au dosage des bases totales du sérum sanguin et d'autres substances. *C. R. Soc. Biol.*, 1923, 89, 748.
333. WESSEBERGE (H.). — Les variations de poids subies par les tissus musculaires et nerveux dans l'eau et dans quelques solutions salines sont-elles conditionnées par des phénomènes osmotiques ? *Thèse Doct. ès Sc.*, Paris, 1918.
334. WHITE (H. L.), MONAGHAN (B.) et URBAN (Fr.). — Electrical factors influencing the rate of filtration of aqueous electrolyte solutions through cellophane membranes. *Journ. of gen. Physiol.*, 1935, 18, 515.

335. WINTERSTEIN (H.). — Die Narkose, 2^e édit. J. Springer, édit. Berlin, 1926.
336. WRIGHT (E.), MORGAN, COLEBROOK et DODGSON. — Observations on the pharmacotherapy of pneumococcus infections. *Lancet*, 1912, 2, 1633 et 1701.

Z

337. ZSIGMONDY (R.). — Kolloïdchemie, 5^e édit. O. Spamer, édit. Leipzig, 1927.
338. ZUMSTEIN (H.). — Zur Morphologie und Physiologie der *Euglena gracilis* (Klebs). *Thèse* Leipzig, 1899.
339. ZUNZ (E.). — Eléments de pharmacodynamie spéciale, t. 2, Masson, édit. Paris, 1932.
-

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS

	Pages
Rappel de la question des nouveaux sels d'alcaloïdes	7
Travaux de J. RÉGNIER et de ses élèves	8
But de la recherche sur les sels de quinine	13

INTRODUCTION

Sels de quinine étudiés :

Préparation	17
Propriétés physiques :	
Point de fusion	23
Solubilité : dans l'eau distillée	25
dans l'alcool absolu	27
dans l'éther anhydre	29
Pouvoir rotatoire dans l'alcool absolu	31
Concentration en ions H ⁺ des solutions aqueuses	32
Couleur de fluorescence	34

Méthodes de microdosages utilisées :

Méthode colorimétrique	35
Méthode néphélométrique	38
Méthode fluorométrique	39

PREMIÈRE PARTIE

Recherches sur quelques propriétés pharmacodynamiques des sels de quinine.

A) Action des sels de quinine sur la cellule animale.

I. Action sur les Protozoaires.

Bibliographie	41
Action des sels de quinine sur un Infusoire cilié : <i>Glaucoma scintillans</i>	46
Influence de l'acide qui salifie l'alcaloïde	49
Action des sels de quinine sur une Amibe :	
<i>Entamoeba invadens</i>	52
Influence de l'acide qui salifie l'alcaloïde	56

II. Fixation de la quinine sur les hématies <i>in vitro</i> .	
Bibliographie.....	59
Recherches personnelles.....	61
Extraction de la quinine par voie chimique.....	63
Extraction de la quinine par électrodialyse.....	65
Electrodialyseur utilisé.....	70
Influence de l'acide qui salifie l'alcaloïde.....	75
III. Action hémolytique des sels de quinine.	
Bibliographie.....	76
Technique.....	79
Influence de l'acide qui salifie l'alcaloïde :	
sur la vitesse de sédimentation des hématies.....	81
sur le pouvoir hémolytique.....	82
IV. Action sur les terminaisons nerveuses de la cornée et le tronc nerveux moteur.	
Bibliographie.....	85
Action sur la cornée du Lapin. Méthode de J. RÉGNIER.....	86
Influence de l'acide qui salifie l'alcaloïde.....	88
Action sur le nerf moteur de Grenouille. Technique.....	89
Action du chlorhydrate de quinine en liquide de Ringer.....	93
Influence de l'acide qui salifie l'alcaloïde en eau glucosée isotonique.....	96
V. Toxicité pour la Souris, par voie buccale et par voie sous-cutanée.	
Bibliographie.....	102
Toxicité par voie buccale.....	105
Toxicité par voie sous-cutanée.....	107
Interprétation des résultats.....	109
VI. Elimination urinaire de la quinine chez le Lapin.	
Bibliographie.....	111
Technique.....	113
Influence de l'acide qui salifie l'alcaloïde.	
Sur : l'élimination urinaire.....	115
la diurèse.....	116
la température normale.....	117
VII. Action sur la streptococcie et la pneumococcie expérimentales de la Souris.	
Bibliographie.....	120
Streptococcie expérimentale.....	121
Pneumococcie expérimentale.....	124
B) Action des sels de quinine sur la cellule végétale.	
Bibliographie.....	129
I. Action sur un Euglénien : <i>Euglena gracilis</i>	131
II. Action sur l'équilibre cytoplasmique chez <i>Ascoidea rubescens</i>	135

DEUXIÈME PARTIE

Recherches sur quelques propriétés physico-chimiques des sels de quinine.

I. Dissociation et hydrolyse des sels de quinine	141
Détermination, par mesure des conductivités, des coefficients d'ionisation et des constantes de dissociation des sels de qui- nine.....	142
Résultats.....	144
Hydrolyse des sels de quinine	146
Méthodes de calcul	147
Résultats.....	153
II. Vitesses de diffusion relatives des sels de quinine :	
dans l'eau distillée.....	156
Technique	157
Résultats	160
dans les gels (gélatine, gélose).....	163
Technique.....	164
Résultats.....	165
III. Passage des sels de quinine à travers les membranes inertes (cellophane).	
Bibliographie.....	167
Technique.....	170
Résultats	176
IV. Gonflement de la gélatine en présence des sels de quinine.	
Bibliographie	179
Gonflement de la gélatine ordinaire.....	182
Résultats	184
Préparation de la gélatine isoélectrique	185
Gonflement de la gélatine isoélectrique	186
Résultats.....	187
V. Tension superficielle des solutions aqueuses des sels de quinine.	
Bibliographie.....	188
Résultats.....	190

CONCLUSION

Résumé des résultats obtenus.....	192
Discussion	202
BIBLIOGRAPHIE	205

DEUXIÈME THÈSE

Proposition donnée par la Faculté :

Les Auxines

Vu et approuvé :

Paris, le 29 janvier 1943.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

P. MONTEL.

Vu et Permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

GILBERT GIDEL.

